This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

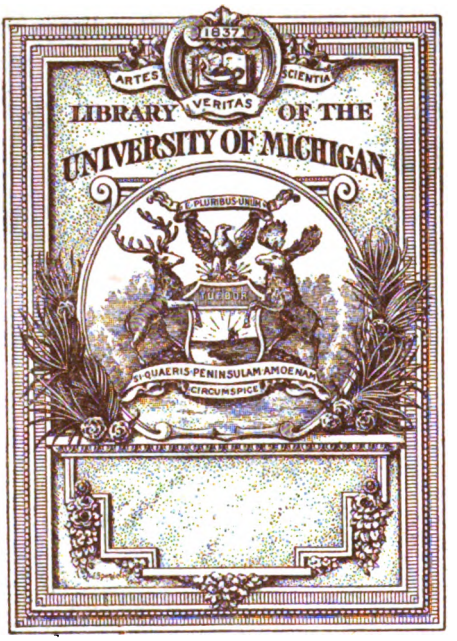
About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

BOHR B

a39015 00010897 0b

Digitized by Google



Digitized by Google

SCIENCE LIBRARY
18
QK
1
.R454

Digitized by Google

Digitized by Google

REVUE GÉNÉRALE

DE

BOTANIQUE

Digitized by Google

LILLE. — IMPRIMERIE LE BIGOT FRÈRES.

Digitized by Google

REVUE GÉNÉRALE

DE

BOTANIQUE

DIRIGÉE PAR

M. Gaston BONNIER

MEMBRE DE L'INSTITUT,

PROFESSEUR DE BOTANIQUE A LA SORBONNE

TOME QUINZIÈME

PARIS

PAUL DUPONT, ÉDITEUR

4, RUE DU BOULOI, 4

1903

Digitized by Google

Digitized by Google

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DES PROTOCOCCACÉES

CHLORELLA VULGARIS Beyerinck

par M. Jean GRINTZESCO

INTRODUCTION

Notre introduction sera courte. Nous venons de publier un travail sur *Scenedesmus acutus* Meyen (1), dans lequel nous avons exposé nos vues et le but de nos recherches. Nous y renvoyons nos lecteurs, car la présente publication sur *Chlorella vulgaris* a été conçue sur le même plan que le travail cité plus haut et concourt aux mêmes résultats, à savoir :

1° Isoler une algue et en obtenir des cultures pures :

2° Déterminer sa morphologie et sa physiologie sous l'influence de facteurs physiques et chimiques variables, c'est-à-dire à l'aide de milieux divers ;

3° Tirer des conclusions générales en comparant les résultats indiqués ici et ceux enregistrés pour d'autres espèces.

Nous avons choisi *Chlorella vulgaris* à cause de son abondance, parce qu'on peut l'isoler facilement, parce qu'elle s'accommode volontiers de divers milieux et surtout parce que sa forme très simple et son développement la placent à la base du système des algues vertes tout entier. Nos recherches sur *Chlorella vulgaris* ont été entreprises à l'Institut botanique de l'Université de Genève, avec l'aide des excellents conseils de M. le Professeur Chodat,

(1) Grintzesco, J. : *Recherches expérimentales sur la morphologie et la physiologie du* Scenedesmus acutus *Meyen*. Bull. Herb. Boissier, 1902.

135019

Digitized by Google

Directeur de cet Institut. Elles ont été vérifiées et continuées à l'Institut de Physiologie expérimentale de Bucarest, grâce à l'obligeance du directeur, M. le Professeur Vitzou.

Nous exprimons notre vive reconnaissance à MM. Chodat et Vitzou.

Première Partie

CHAPITRE I

Historique et Bibliographie

Nous donnerons plus loin la liste des ouvrages que nous avons consultés ; voici en quelque mots les principaux résultats acquis par ces travaux :

C'est Beyerinck (1) qui, en 1890, a constitué le genre *Chlorella* comprenant trois espèces dont une est *Chlorella vulgaris*. Cet auteur, qui a particulièrement étudié cette espèce :

1° a eu l'heureuse idée d'employer pour ses cultures des milieux gélatinés ; 2° il a résumé le développement de cette petite algue et nous en a fait connaître certains caractères physiologiques ; 3° il identifie *Chlorella vulgaris* à *Chlorococcum protogenitum* de Rabenhorst et il en fait une Pleurococcacée en se basant sur la diagnose établie pour ce groupe par Klebs ; 4° il croit que *Chlorella vulgaris* est une espèce bien définie et non le stade de développement d'une autre algue : « Wir glaŭben dass ŭnsere Chlorella eine gŭte Art ist, ŭnd dŭrchaŭs nicht als Protococcus Zŭstand irgend einer hŏheren Alge aŭfgefast werden kann ».

Ce dernier point est important, car bien que *Chlorella vulgaris* ait attiré l'attention de plusieurs algologues, elle figure dans un nombre restreint d'ouvrages. On l'a considérée souvent comme un stade dans le développement d'autres algues.

Nous indiquerons de suite que certains *Pleurococcus* sans pyrénoïde peuvent en effet, cultivés sur agar, présenter une forme chlorelloïde. Cette forme est le produit de la division d'une cellule en un grand nombre de petites spores, mais l'absence d'un pyré-

(1) Beyerinck : *Culturversuchen mit Zoochlorellen, Lichengonidien ŭnd anderen niederen Algen.* Bot. Zeitg., n° 45, 1890.

Digitized by Google

noïde est un bon critérium pour distinguer ces formes chlorelloïdes d'une véritable *Chlorella*.

A part Beyerinck, nous pouvons citer comme ayant étudié *Chlorella vulgaris* :

Wille (1) qui en fait une Pleurococcacée voisine d'*Eremosphaera* de de Bary.

Artari (2) en fait un *Pleurococcus* et admet l'identité de cette algue avec *Zoochlorella*.

Radais (3) en a fait des cultures pures et s'est occupé de sa nutrition à la lumière et à l'obscurité. Par l'analyse spectrale il a démontré que la chlorophylle qu'elle développe à l'obscurité est identique à celle produite par des plantes supérieures et dans des conditions normales.

Chodat (4), dans un récent ouvrage sur la Systématique des algues vertes, établit une nouvelle classification des Chlorophycées. Les Protococcacées y constituent une famille à caractères nettement tranchés et la tribu des Protococcées comprend entr'autres *Eremosphaera*, *Chlorella*, *Oocystis*, etc. L'auteur insiste peu sur *Chlorella* ; il en donne une courte description et quelques figures; il attire l'attention sur la symbiose entre *Zoochlorella* et les infusoires ; il constate que par leurs divisions sporangiales *Zoochlorella* et *Chlorella* offrent une grande analogie. Enfin, il se demande si ces organismes sont vraiment des espèces indépendantes ou des stades de développement d'autres algues. Il penche plutôt pour cette dernière alternative.

***

Quant à une symbiose de *Zoochlorella* avec les infusoires, elle nous paraît hors de doute : l'algue vit dans ces animaux, se multiplie, est pourvue d'un noyau, d'un chromatophore, d'un pyrénoïde. Les travaux principaux sur ce sujet sont ceux de Brandt et de Kessler.

(1) Wille N. : *Chlorophyceen. Engler und Prantl Natürl. Pflanzenfamilien.* Pleurococcacées, 1890.

(2) Artari : *Untersuchungen über Entwickelung und Systematik einiger Protococcoïdeen.* Bull. Soc. Imper. des Naturalistes de Moscou, 1892.

(3) Radais : *Sur la culture pure d'une algue verte. Formation de chlorophylle à l'obscurité.* Comptes rendus Acad. des sciences. Paris, 1900.

(4) Chodat : *Algues vertes de la Suisse.* Berne, 1902.

Digitized by Google

Après avoir démontré, en 1882, l'identité du pigment chlorophyllien des Zoochlorellas avec celui des autres plantes, Brandt (1) s'est occupé de leur symbiose avec des infusoires (*Stentor*, *Paramecium*, *Stylonychia*), des spongillas, des hydres et des planaires d'eau douce. Il conclut à une symbiose d'après les deux faits suivants : d'une part les animaux cités plus haut peuvent être complètement dépourvus d'algues, d'autre part les cellules vertes vivant en symbiose avec eux persistent en bon état pendant des semaines, après l'écrasement de l'animal qui les renfermait. Elles semblent même se multiplier pendant ce temps. Si cet auteur n'a pu obtenir de symbiose en mettant en présence des infusoires incolores et des cellules vertes obtenues par l'écrasement d'une *Spongilla*, par contre il a pu obtenir des *Paramecium* et des *Stentor* verts en prenant des animaux incolores et en les maintenant pendant plusieurs jours en présence d'algues obtenues par l'écrasement d'une hydre verte. L'auteur croit qu'il doit y avoir plusieurs espèces de *Zoochlorella* habitant ces animaux.

Peu de temps après Kessler (2) reprit les recherches de Brandt et s'occupa exclusivement de certains rhizopodes renfermant des cellules vertes. Ses résultats confirment ceux de Brandt. Kessler semble en outre avoir réussi à isoler les algues vertes vivant en symbiose avec les hydres, en les cultivant dans des chambres humides, mais il doute de la pureté de ses cultures.

*
* *

Voici la liste complète des ouvrages que nous avons consultés :

Brandt, K. — *Ueber die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Thieren.* — Archiv f. Anatomie und Physiologie. — Physiolog. Abtheil. 1882.

Kessler, G. — *Zoochlorella, Ein Beitrag zur Lehre von der Symbiose.* — Archiv. f. Anatomie und Physiologie. — Physiolog. Abtheil. 1882.

Beyerinck, M. W. — *Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichengonidien und anderen niederen Algen.* Botan. Zeitung, N° 45, 1890.

(1) Brandt : *Ueber die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Thieren.* Archiv. für Anatomie und Physiologie. Physiol. Abtheil., 1882.

(2) Kessler, G. : *Zoochlorella.* Archiv f. Anatomie und Physiologie, 1882.

Digitized by Google

Wille, N. — *Chlorophyceen.* — *Engler und Prantl Naturl. Pflanzenfam. Pleurococcacées*, 1890.

Artari, A. — *Untersuchungen uber Entwickelung und Systematik einiger Protococcoïdeen.* — Bull. Soc. Impér. des Naturalistes de Moscou, 1892.

Chodat, R. — *Matériaux pour servir à l'histoire des Protococcoïdées.* — Bull. Herb. Boissier, 1894.

Chodat, R et Goldflus, M. — *Note sur la culture des Cyanophycées.* — Bullet. Herb. Boissier, 1897.

Radais, M. — *Sur la culture d'une algue verte — Formation de chlorophylle à l'obscurité.* — Comptes rendus de l'Académie des sciences de Paris, 1900.

Chodat, R. et Grintzesco, J. — *Sur les méthodes de cultures pures des algues vertes.* — Comptes-rendus du Congrès de botanique de Paris, 1900.

Radais, M. — *Sur la culture des algues à l'état de pureté.* — Comptes rendus du Congrès de botanique de Paris, 1900.

Chodat, R. — *Algues vertes de la Suisse.* — Berne, 1902.

Grintzesco, J. — *Recherches expérimentales sur la morphologie et la physiologie de* Scenedesmus acutus Meyen. — Bull. Herb. Boissier, 1902.

CHAPITRE II

Biologie et dissémination de *Chlorella vulgaris* Beyer. Moyens d'isoler cette espèce.

I. — *Chlorella vulgaris* Beyer. est une espèce plutôt rare dans les eaux d'une certaine étendue comme les grands lacs et ce n'est que sur leurs bords qu'on a quelque chance de la rencontrer.

II. — Par contre elle est si abondante dans les petits étangs et les fossés qu'un premier triage permet de suite de l'isoler. Elle constitue la nourriture principale de crustacés, de larves, d'infusoires, d'éponges, d'hydres et de planaires avec lesquels elle peut vivre en symbiose.

III. — Ce n'est pas une espèce complètement aquatique : nous l'avons trouvée sur des écorces, des morceaux de bois humide, la terre humide, associée avec des *Ulothrix*, des *Stichococcus*, des

Digitized by Google

Pleurococcus. Elle peut traverser des périodes de sécheresse assez prolongées et recommencer ensuite à se multiplier à l'arrivée des pluies.

IV. — Son extension géographique est considérable. Grâce à sa petitesse, elle peut être transportée à d'énormes distances par les oiseaux aquatiques. Pendant la sécheresse, comme elle constitue une sorte de poudre verte, il se peut aussi qu'elle soit transportée par le vent. On la trouve jusque dans le dépôt des réservoirs à eau distillée des laboratoires.

***

On trouvera dans notre communication faite au congrès de Paris en 1900 quelles sont les méthodes pratiques que nous avons employées pour isoler les algues et en obtenir des cultures pures. Nous avons encore exposé ces méthodes dans une publication récente sur *Scenedesmus acutus* Meyen (1) : aussi nous bornerons-nous à ne faire ici que deux remarques.

I. — Lorsqu'un mélange naturel d'algues contient plusieurs espèces, c'est la plus fréquente qu'on a le plus de chances d'isoler en premier lieu, et, en admettant (ce qui n'arrive pas dans la nature) que les espèces se trouvent dans un mélange en proportions égales, c'est celle qui peut le mieux vivre dans un milieu artificiel qu'on aura le plus de chances d'obtenir. Or, *Chlorella vulgaris* Beyer. est à la fois abondante et paraît assez plastique quant au substratum, c'est ce qui rend sa culture pure relativement facile.

II. — Il est des algues qu'un faible changement dans le substratum ordinaire peut empêcher de se développer. Aussi nous a-t-il semblé préférable de nous rapprocher le plus possible du substratum naturel et par exemple, pour une algue que l'on a trouvée dans un étang, il est mieux d'employer l'eau même de cet étang, stérilisée, pour la préparation des milieux de culture.

(1) Grintzesco, J. : *Recherches expérimentales sur la morphologie et la physiologie du* Scenedesmus acutus *Meyen*. Bull. Herb Boissier, 1902.

Digitized by Google

CHAPITRE III

Développement de *Chlorella vulgaris* Beyer.

§ 1. — Apparence générale.

Par sa forme, sa structure et son développement, *Chlorella vulgaris* Beyer. présente les caractères typiques des Protococcoïdées sans offrir de particularité. La morphologie de cette espèce étant exposée dans les travaux de Beyerinck (1) et de Chodat (2), nous n'ajouterons que quelques mots.

Quand elle vit dans les marécages, les étangs, les fossés ou sur les murs humides, *Chlorella vulgaris* Beyer. se présente sous forme de cellules arrondies ou légèrement ovales et ordinairement libres (fig. 1). Quand elle forme des groupes de 2, 4, 8 ou 16 individus, ces groupes ne sont que temporaires : on ne les constate que pendant peu de temps après la déhiscence de la cellule mère. Plus tard les cellules s'écartent, vivent isolément et elles n'atteignent qu'à ce moment leurs dimensions normales.

Fig. 1. — Forme habituelle de *Chlorella vulgaris*.

Les dimensions de *Chlorella vulgaris* Beyer. sont très variables, mais dans les conditions normales elles ne dépassent pas 6 microns en diamètre. Ce sont principalement les différences de grandeur des individus de cette espèce qui ont embarrassé maintes fois les algologues ; mais nous ne pensons pas qu'elles aient l'importance systématique qu'on leur a donnée quelquefois.

La méthode des cultures pures nous a permis d'établir que ces différences s'expliquent par la présence simultanée de plusieurs générations et qu'elles s'accentuent dans certains milieux de

(1) Beyerinck : *Culturversuche mit Zoochlorellen*. Bot. Zeitung. 1890.

(2) Chodat : *Algues vertes de la Suisse*. Berne, 1902.

Digitized by Google

culture : ainsi, dans les milieux riches en substances nutritives, les cellules sont plus grosses que dans les milieux naturels, ce qui se comprend aisément.

§ 2. — Membrane, chromatophore, pyrénoïde, noyau.

I. — La membrane lisse et très mince de *Chlorella vulgaris* Beyer. fixe fortement le bleu de méthylène et la vésuvine ; ceci indique qu'elle est de nature pectique. L'emploi de ces deux réactifs permet de constater que le ciment unissant les cellules filles, lors de leur mise en liberté, est également pectique.

Le chlorure de zinc iodé produit une coloration violette dans la couche la plus interne de la membrane, ce qui révèle la présence de cellulose dans cette couche. Chodat (1) a montré que les jeunes membranes des Protococcoïdées sont formées de cellulose additionnée de pectose et que ce n'est que plus tard que cette dernière substance émigre vers l'extérieur pour former alors un cadre plus ou moins solide.

II. — Le chromatophore très distinct se présente sous forme d'une plaque rejetée d'un côté de la paroi cellulaire, de façon à laisser une ouverture plus ou moins grande (fig. 1, *a* page 7). Cette position du chromatophore ainsi que sa coloration d'un vert uniforme permettent de reconnaître une *Chlorella* à première vue.

Dans les cultures sur plaques nous avons vu le chromatophore présenter des perforations plus ou moins nombreuses (fig. 6, *a* et *b* page 20) où se ramasser contre une portion de la paroi cellulaire (fig. 6, *c* et *d*). Ceci semble donc indiquer que son aspect est en corrélation avec le mode de nutrition des cellules.

Il se divise en 2, 4 ou 8 portions lorsque commence la multiplication cellulaire.

De mauvaises conditions de culture le désorganisent en même temps qu'apparaissent dans la cellule de petites gouttes d'huile et que le pyrénoïde disparaît.

III. — Le pyrénoïde est plus ou moins distinct Il occupe toujours le centre du chromatophore qui, d'après Chodat (2), le loge dans un épaississement.

(1) Chodat, R. : *Matériaux pour l'histoire des Protococcoïdées*. Bull. Herb. Boissier, 1894.

(2) Chodat, R. : *Algues vertes de la Suisse*. Berne, 1902.

Digitized by Google

IV. — Le noyau par contre est très indistinct et on ne peut révéler sa présence qu'en décolorant le chromatophore puis en employant les réactifs nucléaires. C'est ainsi que nous avons constaté que chaque cellule possède un, et rarement deux noyaux.

Rappelons que Beyerinck, en cultivant des *Chlorella* dans de l'eau de mer, a obtenu des cellules à noyaux bien distincts. Le mode de division du noyau des Protococcoïdées est encore en discussion mais *Chlorella* ne peut guère aider à élucider cette question, l'espèce étant trop petite pour se prêter aux études cytologiques.

§ 3. — Division.

Nous avons pu suivre la division de *Chlorella vulgaris* en employant des chambres humides de Ranvier, préalablement stérilisées, puis ensemencées à l'aide d'une pipette à pointe très effilée. Il faut opérer de façon à n'introduire qu'un petit nombre de cellules. Les lamelles dont une des faces présentent des carrés gravés à l'acide fluorhydrique sont à recommander pour ce genre de recherches.

1° Nous avons observé que comme toutes les Protococcoïdées, *Chlorella vulgaris* se multiplie par divisions successives ;

2° Les cellules filles ne sont jamais des éléments mobiles ;

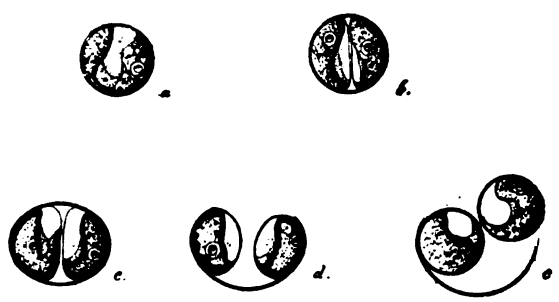


Fig. 2. — *Chlorella vulgaris* Beyer. — Divers stades de division cellulaire par deux.

3° Elles sont mises en liberté par la déchirure de la membrane de la cellule mère ;

4° Le nombre des cellules filles est en relation avec le milieu ambiant. La division se fait par 2, par 4 ou par 8.

Elle se fait par deux (fig. 2) quand les cultures sont dans des

Digitized by Google

conditions défavorables à la multiplication. C'est un indice que la reproduction va s'arrêter au bout de peu de temps et que l'algue va passer à l'état de vie latente.

Par contre la division par 4 et celle par 8 se rencontrent dans les milieux naturels ainsi que dans les milieux artificiels qui réalisent de bonnes conditions (fig. 3 et 4).

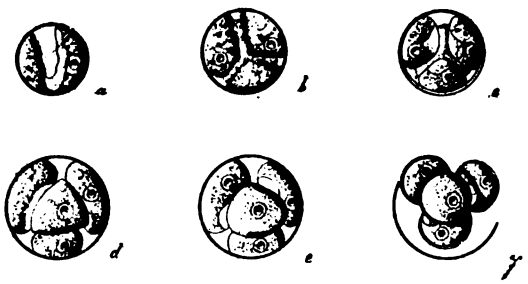


Fig. 3. — *Chorella vulgaris* Beyer. — Divers stades de division cellulaire par quatre.

Quant à la division par 16, que Beyerinck a décrite comme fréquente, tandis que la division par 2, par 4 ou par 8 ne serait qu'une exception, nous ne l'avons au contraire que rarement rencontrée bien que nous ayons examiné *Chlorella vulgaris* Beyer. pendant plus de deux années. Cette différence d'opinion entre Beyerinck et nous est due sans doute à ce que nos milieux de culture diffèrent de composition.

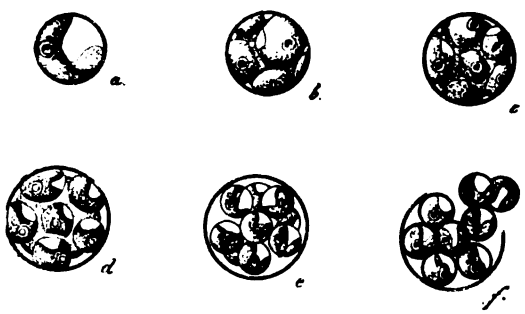


Fig. 4. — *Chlorella vulgaris* Beyer. — Divers stades de division cellulaire par huit.

5° La membrane de la cellule mère se déchire toujours après la division et les cellules filles sont poussées légèrement au dehors (fig. 3 et 4). Elles restent encore quelque temps réunies par la substance intersporaire et elles forment alors un cénobe. Ce stade correspond à celui des Protococcoïdées qui présentent des cénobes permanents. Mais *Chlorella vulgaris* ne forme que des cénobes éphémères ; les cellules filles s'écartent bientôt et vivent isolées.

6° Les cellules qui se divisent et qui proviennent d'une culture

Digitized by Google

sur agar ont une membrane très mince. Cela explique leur ouverture rapide lorsqu'on les transporte dans un milieu liquide. Les cellules qui proviennent d'une culture dans des milieux liquides suffisamment exposés à la lumière présentent une membrane plus épaisse.

7° La rapidité de la division est variable. Elle est active et se fait par huit pendant les premiers jours de culture dans une chambre humide, contenant une solution nutritive, dont nous donnons la formule plus loin, et que nous employons généralement pour la préparation des milieux de culture. Mais bientôt la multiplication se ralentit et l'on observe la division par 4, phénomène identique à ce que nous avons constaté chez *Scenedesmus acutus*. Au bout de 20 jours environ la division se ralentit davantage encore et ne se produit plus que par 2. Finalement on observe des cas de rénovation totale : le contenu de la cellule mère s'entoure d'une nouvelle membrane. Quand les conditions de culture ne sont décidément plus favorables, l'algue passe à l'état de vie latente pendant un temps que nous ne pouvons préciser. Dans cet état *Chlorella vulgaris* supporte la sécheresse pendant longtemps : nous avons pu conserver des cultures desséchées de cette espèce pendant plus d'une année et de nouveaux ensemencements faits avec ces cultures desséchées nous ont prouvé que l'algue n'avait pas perdu sa vitalité.

Deuxième Partie

CHAPITRE IV

Cultures sur agar-agar.

§ 1. — Cultures sur agar-agar additionné de sels minéraux. — Quantités de sels nutritifs nécessaires au développement de *Chlorella vulgaris* Beyer.

Formule du milieu employé ordinairement pour nos cultures :

Agar-agar 20 grammes. L'agar est purifié par macération dans une solution de 5/1000 d'acide chlorhydrique puis lavé à grande

Digitized by Google

eau jusqu'à disparition complète de l'acide. Après ce lavage on fait dissoudre l'agar dans la solution suivante :

Azotate de calcium	1,65
Chlorure de potassium	0,50
Sulfate de magnésie	0,50
Phosphate de potassium	0,50
Sesquichlorure de fer	des traces
Eau distillée	1000 grammes

Ce milieu ayant donné d'excellents résultats pour la culture de *Scenedesmus acutus* Meyen, nous l'avons employé pour d'autres espèces et en particulier avec succès pour *Chlorella vulgaris*. En effet :

1° *Dans ce milieu le développement de Chlorella est rapide.* Les colonies sont visibles en été au bout de 6 à 8 jours si l'ensemencement provient d'une culture récente ;

2° Si l'ensemencement est fait avec d'*anciennes cultures* le développement est plus lent et les colonies ne deviennent visibles à à l'œil nu qu'au bout de 16 à 20 jours ;

3° Les colonies se développent plus vigoureusement si elles sont à *la surface* du milieu nutritif; celles qui se trouvent englobées dans le milieu même sont petites;

4° *En hiver* le développement des colonies est plus tardif;

5° Au début, les colonies paraissent d'un vert pâle, mais elles ne tardent pas à prendre une coloration plus foncée qui s'accentue de plus en plus. Les formes de ces colonies n'ont rien de caractéristique : elles sont sphériques, ovalaires, lenticulaires ou tout à fait irrégulières; cela dépend de leur pénétration dans les fissures produites dans le milieu nutritif par suite de leur croissance. Leur accroissement peut se poursuivre pendant longtemps si le milieu ne perd pas trop vite son eau de composition; il est donc bon de couvrir les cultures avec des cloches pour retarder l'évaporation.

6° Sous le microscope on voit que les colonies sont formées de cellules arrondies et libres dont les dimensions varient à l'infini par suite de la présence simultanée de plusieurs générations. On observe aussi des cellules ovales, réniformes ou polyédriques par suite de l'entassement (fig. 5, page 13). Leur membrane est toujours très mince, leur chromatophore est d'un vert gai et leur pyrénoïde est très petit, souvent difficile à voir. On observe tous les stades de division représentés dans les figures 2, 3 et 4 ; le phénomène se

Digitized by Google

produit de la même façon que dans les chambres humides. En d'autres termes, pendant que les colonies sont en pleine période de croissance on observe la division par huit et par quatre ; plus tard lorsque les conditions de culture deviennent peu favorables

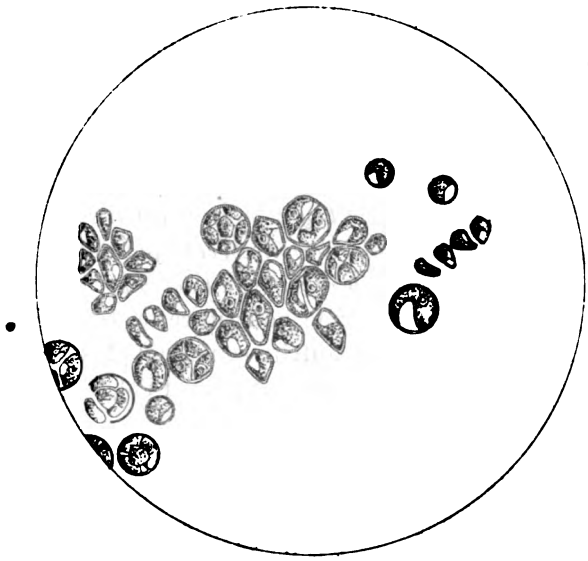


Fig 5. — *Chlorella vulgaris* Beyer. — Vue d'une colonie obtenue sur agar. Présence de tous les stades de développement. Les cellules sont polyédriques à cause de l'entassement.

la division se fait par deux ou s'arrête. Dans ces colonies la dimension des cellules varie de 4 à 6 microns.

***

Pour déterminer, quelles sont les quantités de sels nutritifs convenant le mieux au développement de *Chlorella vulgaris*, nous avons entrepris, le même jour et dans les mêmes conditions physiques, les trois séries de culture suivantes :

1re *série* de six flacons Erlenmeyer :	2e *série* de six flacons Erlenmeyer :	3e *série* de six flacons Erlenmeyer :
Agar-agar . . . . 20 gr.	Agar. . . . . 2 °/o	Agar.
Azotate de calcium. 0,50	Azotate de calcium 2,0	Eau distillée.
Chlor. de potassium 0,50	Eau distillée . . traces	
Sulf. de magnésie. 0,50		
Phosph. de potass. 0,50		
Sesquichl. de fer. traces		
Eau distillée. . 1000 gr.		

Digitized by Google

Résultats : 1° Les flacons de la première série montrent des colonies au bout de 6 à 8 jours; ceux de la deuxième série n'en montrent qu'au bout de 18 à 20 jours et ceux de la troisième série qu'au bout de 20 à 25 jours;

2° Les colonies de la première et de la deuxième série sont vertes, mais leur développement s'arrête au bout de quelque temps; celles de la troisième série deviennent plus grandes mais leur accroissement s'arrête également au bout de quelque temps;

3° Partout la surface du milieu nutritif est plus favorable au développement des colonies.

Pour que Chlorella vulgaris *Beyer. se développe il suffit donc d'une très petite quantité de substances nutritives, et l'agar seul, sans l'adjonction d'aucune autre substance, peut suffire au développement.* Tant que l'algue a à sa disposition assez de nourriture les colonies se développent; quand les conditions nutritives ne sont plus suffisamment réalisées, les colonies ne s'accroissent plus et l'algue passe à l'état de vie latente.

§ 2. — Cultures sur agar-agar nutritif glucosé.

Pour préciser l'influence du glucose sur le développement de *Chlorella vulgaris*, nous avons établi deux séries de cultures placées dans les mêmes conditions physiques et obtenues par une dilution de cultures pures :

1re série de six flacons :	*2e série* de six flacons :
Agar nutritif.	Agar nutritif.
Glucose 1 °/o.	

Résultats : 1° Pour *Chlorella vulgaris* comme pour *Scenedesmus acutus* le développement des colonies se fait avec *vigueur* dans les milieux glucosés : au bout d'un mois les colonies développées dans ces milieux sont en moyenne *trois fois plus grosses* que celles obtenues dans l'agar sans glucose. Ce fait peut se constater aussi bien dans les ensemencements par stries que dans ceux par piqûres.

2° Le développement est très *rapide* puisqu'à partir du cinquième ou du sixième jour après l'ensemencement les colonies sont déjà visibles à l'œil nu.

3° Le développement est le même dans *toute la masse* du milieu glucosé et n'a pas lieu à la surface seulement comme c'était le cas dans les milieux sans glucose.

Digitized by Google

4° En outre, tandis que pour *Scenedesmus acutus* les milieux glucosés finissent par devenir défavorables au développement des colonies qui prennent une teinte jaune brunâtre, *ces mêmes milieux glucosés sont toujours propices au développement de Chlorella vulgaris.* Les colonies continuent toujours à grossir et gardent leur couleur vert foncé.

5° L'examen microscopique n'indique pas de particularités sauf que les *cellules sont en général plus grosses* que celles développées dans l'agar sans glucose : elles atteignent jusqu'à 8 microns de diamètre. Le chromatophore est d'un vert uniforme. Le pyrénoïde est toujours visible sauf dans les cellules très jeunes ou en voie de division.

(A suivre).

Digitized by Google

LA PHOTOSYNTHÈSE CHLOROPHYLLIENNE

EN DEHORS DE L'ORGANISME

par M. LUIGI MACCHIATI

Plusieurs auteurs, parmi lesquels Baranetsky (1), ont pensé que la décomposition de l'anhydride carbonique dans les parties vertes du végétal peut être produite par un ferment chimique (enzyme), élaboré par la cellule du tissu assimilateur, mais la preuve expérimentale n'avait pas été donnée.

M. Jean Friedel, dans une importante communication à l'Académie des Sciences (2) a annoncé qu'il avait obtenu l'assimilation chlorophyllienne, en dehors de l'organisme, sans l'intervention du protoplasma vivant, par l'action d'une diastase qui utilise l'énergie des rayons solaires.

Il a extrait de feuilles d'une plante, la substance soluble dans l'eau glycérinée, et avec d'autres feuilles de la même plante, il a préparé une poudre verte qu'il a conservée quelque temps à une température supérieure à 100 degrés. Pris isolément, ni l'extrait de la feuille, ni la poudre contenant la chlorophylle ne peuvent produire l'assimilation ; tandis qu'il y a assimilation si l'on expose à la lumière solaire un mélange des deux substances. Il s'est produit alors un dégagement d'oxygène, avec une absorption corrélative d'anhydride carbonique, le rapport des volumes gazeux dégagé et absorbé était voisin de l'unité.

Ce très important résultat était déstinée à donner une orientation nouvelle à la Physiologie végétale.

Plusieurs physiologistes ont répété les expériences de M, Friedel, en apportant des modifications plus ou moins profondes à sa méthode.

(1) Bulletin de l'Université de St-Vladimir à Kieff (en Russe), Novembre 1899.
(2) Comptes-rendus, tome CXXXII, n° 18 (6 mai 1901).

Digitized by Google

Par ma première communication à la Société botanique italienne, réunie à Florence (Séance du 13 octobre 1901), j'ai été le premier à reprendre cette étude (1). Peu après, parurent les communications de M. Harroy (2) et de M. le Dr Herzog (3), mais les résultats de ces expérimentateurs furent négatifs, comme l'avaient été d'ailleurs quelques expériences publiées un peu auparavant par M. Friedel (4). Mes recherches ultérieures donnèrent des résultats bien différents. J'en communiquai les résultats à la Société des naturalistes de Naples, à la séance du 20 juillet 1902 (5), et de nouveau à la Société botanique italienne à la séance du 9 novembre 1902 (Cette dernière note n'est pas encore imprimée).

Sans reprendre ce que j'ai exposé dans mes travaux précédents, je me bornerai à communiquer, avec les résultats synthétiques de mes dernières, quelques indications sur la méthode que j'ai modifiée depuis, sans altérer pour cela les conditions naturelles.

Je prépare d'abord, avec les feuilles de la plante, lavées soigneusement à l'eau distillée, l'extrait glycériné avec de l'eau distillée et stérilisée, et de la glycérine anhydre chimiquement pure, les volumes des deux liquides étant égaux. Suivant la plante la couleur de cet extrait varie du jaune pâle au jaune orange. En agitant longuement une partie de cet extrait avec du benzène, j'en ai extrait l'agent de l'assimilation photosynthétique, l'enzyme. J'ai décanté le benzène, je l'ai laissé reposer, et le ferment a précipité sous forme d'une substance blanche, floconneuse et amorphe, qui, observée au microscope à un faible grossissement, se présente sous la forme d'un réseau très fin.

Avec d'autres feuilles de la même plante, également lavées à l'eau distillée et maintenues pendant trois heures dans une étuve à sec, à la température de 100°, j'ai préparé une poudre très fine, dans un mortier de verre stérilisé ; je conserve cette poudre dans un récipient de verre avec un bouchon à l'émeri que, par précaution, je place de nouveau pour une demi-heure, dans une étuve à 100°.

(1) Bulletino della Società botanica italiana. Adunanza del 13 Ottobre 1901.

(2) Comptes-rendus ; t. CXXXIII, n° 22 (25 novembre 1901).

(3) Hop-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie, Band XXX Heft, 4-5 (17 J. 1902).

(4) Comptes-rendus, tome CXXXIII, n° 21 (18 Novembre 1901).

(5) Anno XVI, Vol. XVI (1902, p. 165).

Digitized by Google

Dans cette poudre qui, suivant la plante, a une couleur verte plus ou moins intense, les pigments chlorophylliens ne sont pas altérés. Cette poudre ne peut contenir de protoplasma vivant, mais cela n'empêche pas qu'elle puisse conserver à l'état actif le même ferment que l'on extrait de la feuille avec la glycérine, puisque des diastases semblables supportent longtemps la température de 100°. On peut extraire l'enzyme de cette poudre, comme de la feuille vivante, en la conservant d'abord quelque temps dans la glycérine anhydre chimiquement pure, puis en filtrant l'extrait glycériné et en séparant l'enzyme avec du benzène.

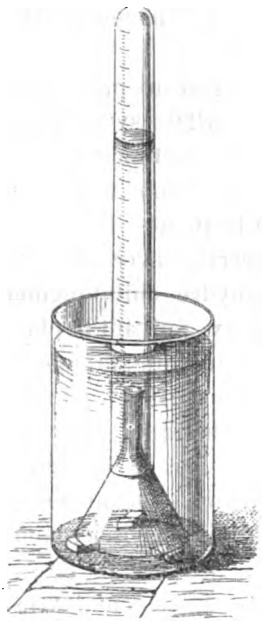


Fig. 6

Pour avoir d'autre part, la poudre complètement exempte de ferment, après avoir filtré l'extrait glycériné, il faut laver plusieurs fois à la glycérine, puis finalement à l'eau distillée stérilisée par la chaleur. On peut mettre en suite le filtre de nouveau à l'étuve sèche, à la température de 100°, jusqu'à évaporation de toute l'eau.

L'appareil dont je me sers est très simple (fig. 6); il est constitué par un vase de verre, que je remplis, suivant les cas, d'eau distillée et de poudre de feuille desséchée à 100°, avec ou sans ferment, ou bien d'extrait glycériné seul ou additionné de poudre. J'y plonge à peu de distance du fond un entonnoir de verre retourné sur lequel je retourne une éprouvette graduée, remplie du même liquide que le vase. Dans les recherches quantitatives volumétriques, j'emploie l'entonnoir, je place directement l'éprouvette pleine du liquide dans le vase cylindrique à peu de distance de la surface. J'expose ensuite l'appareil aux rayons solaires. A mesure que le liquide diminue, je rétablis le volume primitif, en ajoutant de l'eau distillée stérilisée à chaud.

Il résulte de toutes mes nombreuses expériences d'une manière incontestable, que l'extrait glycériné de la feuille vivante ou de la poudre, n'est pas capable à lui seul d'accomplir la photosynthèse à

Digitized by Google

l'aide des radiations lumineuses actives. Par contre, la poudre seule qui contient le ferment, mise dans l'eau distillée, produit toujours un dégagement d'oxygène, et forme corrélativement de l'aldéhyde formique. On peut démontrer la présence de ce dernier corps, au moyen de codéine dissoute dans l'acide sulfurique anhydre chimiquement pur. Avec ce réactif, l'aldéhyde formique se colore en rose-violet. Ce réactif me semble préférable à tous les autres que j'ai employés. La photosynthèse n'a jamais lieu avec la poudre débarrassée de ferment : mais si on ajoute une petite quantité, le phénomène se manifeste immédiatement.

Il résulte de tout cela que la diastase (zymase), ne produit la photosynthèse qu'en présence du pigment chlorophyllien, qui, comme M. Friedel le pense, semble être un sensibilisateur chimique.

L'action du ferment peut être masquée par la glycérine qui est, comme on le sait, un liquide conservateur ; c'est ce qui explique l'insuccès de Friedel quand il a mis la poudre directement dans la glycérine, et les résultats négatifs de ses nouvelles expériences, en mélangeant la poudre de feuille et l'extrait glycériné.

Comme je l'ai affirmé dans ma précédente note, la photosynthèse en dehors de l'organisme s'accomplit encore, si l'on ajoute dans le liquide de l'expérience un agent antiseptique, par exemple le sublimé corrosif dans la proportion de 1/2000.

Dans mes expériences, le dégagement gazeux a toujours été proportionnel à l'intensité des rayons lumineux. A la lumière diffuse le phénomène diminue, peu à peu, et finit par s'éteindre. Si après avoir maintenu quelque temps l'appareil à une obscurité complète, on l'expose de nouveau à la lumière solaire directe il faut quelque temps pour que le phénomène reprenne ; l'expérience peut être continuée avec des rayons intermittents.

Comme l'assimilation dans l'organisme n'a pas lieu à toutes les époques de l'année, la photosynthèse n'a lieu que si la feuille est récoltée en un moment favorable. La saison exerce ainsi une influence.

L'anhydride carbonique de l'air se dissout avec une facilité surprenante dans le liquide de l'expérience, qui contient avec l'eau distillée, le ferment et le pigment chlorophyllien : on dirait qu'il est attiré par le ferment.

Je donne ici quelques chiffres, parmi le grand nombre que j'ai

Digitized by Google

obtenu, en déclarant qu'ils ne peuvent être mathématiquement exacts, vu la difficulté que l'on rencontre dans ces déterminations quantitatives volumétriques, pour ne pas trop s'éloigner des conditions naturelles.

L'appareil qui m'a servi pour cette expérience est le même que précédemment, seulement l'éprouvette retournée plonge directement dans le liquide, sans faire usage de l'entonnoir (fig. 7). En tenant compte de la quantité de liquide employé, de celle qui se trouve dans l'éprouvette et de celle qui est au fond du vase, de la poudre employée, on peut établir avec une certaine précision à combien de poudre correspond le gaz dégagé dans un temps donné, dans l'éprouvette.

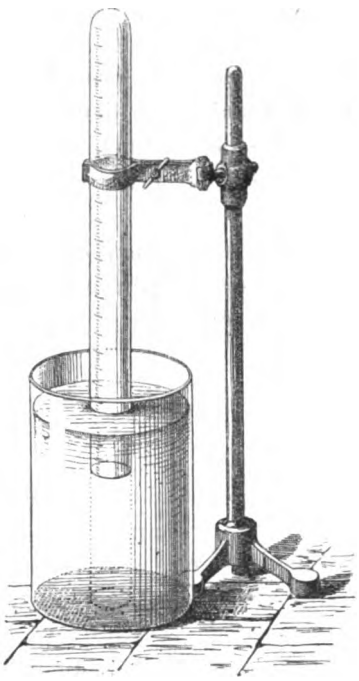


Fig. 7

Dans une expérience, faite le 3 septembre 1902, à 3 h. 30, avec 2 grammes de poudre de feuille d'*Acanthus mollis* dans 125 gr. d'eau distillée, au bout de 24 h., j'ai trouvé dans l'éprouvette 14 cmc de gaz. En calculant que dans l'éprouvette étaient contenus 25 cmc de liquide, et que au-dessous de l'éprouvette dans le vase cylindrique, il restait encore à peu près 14,9 cmc, on peut retenir approximativement que le gaz récolté correspondait à 8/25 c. environ de la poudre employée, c'est-à-dire 64 cg. Ces résultats ne sont pas rigoureusement exacts, parce que la poudre ne peut être distribuée également dans tout le liquide. Tout le gaz qui n'est pas récolté dans l'éprouvette, équivalant ici à 17/25 (4/5), se perd librement dans l'air ambiant.

Les nombreux chiffres de mes expériences paraîtront dans le mémoire original que je ferai sur cette question. Dans toutes mes expériences, après avoir absorbé l'oxygène récolté dans l'éprouvette graduée, avec de l'acide pyrogallique en solution alcaline, il

Digitized by Google

reste toujours une petite quantité de gaz que je n'ai pas analysée ; j'ai essayé de m'assurer si ce gaz contenait de l'anhydride carbonique absorbable par l'hydrate de potasse (potasse caustique), j'ai trouvé quelques traces de ce gaz de bon matin, mais dans le jour, après une courte exposition aux rayons solaires, les résultats ont toujours été négatifs.

Mes recherches confirment indubitablement la découverte de M. Jean Friedel, à savoir que l'agent principal de l'assimilation chlorophyllienne dans la plante verte, et de la photosynthèse en dehors de l'organisme est un ferment soluble (enzyme), et que le pigment chlorophyllien semble fonctionner comme un sensibilisateur chimique. Nous ne savons pas encore si ces sensibilisateurs sont seulement les pigments verts fluorescents ou aussi les pigments jaunes et non fluorescents.

Digitized by Google

INFLUENCE DES BLESSURES

SUR LA RESPIRATION NORMALE

ET INTRAMOLÉCULAIRE (FERMENTATION) DES BULBES

par M. S. SMIRNOFF

L'accroissement de la respiration des plantes blessées est constatée depuis longtemps. M. Böhm (1) fut l'un des premiers qui démontra que la respiration des plantes blessées est plus intense que celle des plantes intactes. Ensuite M. Stich (2) étudia ce phénomène et confirma les expériences de M. Böhm. Il étudiait la respiration des plantes et de leurs parties intactes ; ensuite il les blessait. L'énergie de la respiration s'accroissait dans ce dernier cas. M. Richards (3) continua ces recherches. Outre les recherches analogues à celles de M. Stich, il fit encore quelques expériences sur la respiration intramoléculaire ; il semblerait qu'en ce dernier cas la respiration s'affaiblirait. Richards considère que les efforts que fait la plante pour cicatriser sa blessure occasionnent une respiration plus intense.

Dans le travail que m'a proposé M. le professeur Palladine, et que j'ai exécuté sous sa direction, je me suis proposé de faire des recherches, d'abord sur l'influence qu'exercent diverses blessures sur la respiration des bulbes. Ensuite j'ai fait quelques recherches sur la respiration intramoléculaire (fermentation) et sur son rapport avec la respiration.

Puisque les recherches de M. Palladine démontrent la grande importance des hydrates de carbone pour la respiration et la longévité des plantes, il a été pris comme objets d'expériences des bulbes d'*Allium Cepa*, cette partie de la plante est très riche en hydrates de carbone, comme l'a démontré M. Zaleski. Les expériences sur

(1) Böhm. Botanische Zeitung, 1887, p. 686.

(2) Stich. Flora, 1899, p. 15.

(3) Richards. Annales of botany, 1896, t. X, p. 531.

Digitized by Google

la respiration se faisaient dans l'appareil Pettenkoffer, tel qu'il est décrit par M. Pfeiffer. Au lieu de l'aspirateur on employait une trompe à eau pneumatique. La respiration intramoléculaire s'effectuait dans une atmosphère d'hydrogène avec le même appareil de Pettenkoffer. Avant de commencer les expériences, on introduisait dans l'appareil de l'hydrogène pendant 1 heure 1/2 ou 2 heures. Les expériences étaient faites après 24 heures (En excepter les expériences 8 et 9).

EXPOSÉ DES EXPÉRIENCES

I. La respiration normale

Expérience N° 1.

14 bulbes d'*Allium Cepa* sont coupés en 32 parties et distribuées en 6 portions. Quotidiennement on en prenait une nouvelle portion, sur laquelle on étudiait l'énergie de la respiration. Ensuite ces portions étaient desséchées et l'on déterminait la quantité des matières protéiques non digestibles qu'elles contenaient (1). La respiration se produisait à l'air.

DATE	POIDS	Température	Durée de l'expérience	CO_2 DÉGAGÉ durant l'expérience	CO_2 DÉGAGÉ par 100 gr. en 1 heure	Quantité d'azote non digestible
10 $\frac{XII}{1901}$	49 gr.	21°	1 heure	5,6 mgr.	10,6 mgr.	2,98 °/₀
	»	»	»	5,6 »	11,0 »	
11	57.47	19,2	1 h. 1/4	13,2 »	18,08 »	3,32 »
	»	»	1 h. 1 2	16,0 »	18,6 »	
12	47.98	18,5	1 heure	10,4 »	21.8 »	3,49 »
	»	19	1 »	10,5 »	22,3 »	
13	52.74	19,5	1 »	12,4 »	23,5 »	9,53 »
	»	»	»	12,8 »	24,2 »	
14	52.55	15,7	1 »	11,5 »	22,0 »	13,25 »
	»	17,2	1 »	11.5 »	22,0 »	
15	54.65	18,4	1 »	10,4 »	19,0 »	16,36 »

(1) M. Kovchoff a déterminé la quantité des albumines non digestibles. (*Revue générale de Botanique*, 1902.)

Digitized by Google

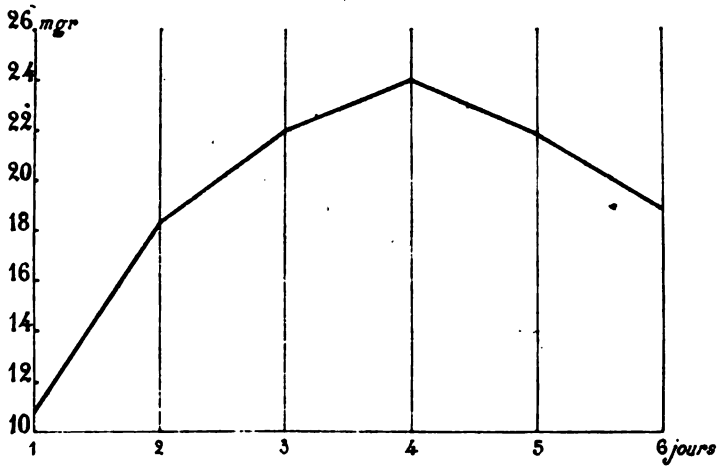


Fig. 8. — *Expérience N° 1.*

La respiration présente son maximum d'énergie le quatrième jour, ensuite elle baisse, tandis que la formation des matières protéiques non digestibles continue.

Expérience N° 2.

6 bulbes d'*Allium ascalonicum*, pesant 29, 28 gr., sont coupés avec un couteau chauffé à rouge en 4 parties, et respirent à l'air.

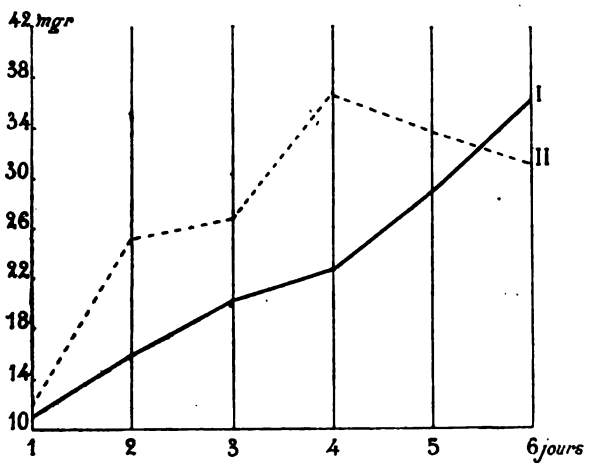


Fig. 9. — *Expérience N° 2* : I, Les bulbes coupés au couteau rouge, II, les bulbes coupés au couteau froid.

Digitized by Google

La plaie est carbonisée. Parallèlement 6 bulbes, du poids de 28,4 gr., sont coupés avec un couteau froid en 4 parties.

DATE	Durée de l'expérience	Température	Les bulbes coupés au couteau rouge — CO_2 dégagé — Par le poids des objets en expér.	Les bulbes coupés au couteau rouge — CO_2 dégagé — Par 100 gr. en 1 heure	Les bulbes blessés au couteau froid — CO_2 dégagé — Par le poids des objets en expér.	Les bulbes blessés au couteau froid — CO_2 dégagé — Par 100 gr. en 1 heure
5 XI 1901	1 h. 1/2	20°	4,8 mgr.	11 mgr.		
	»	»			5,2 mgr.	12 mgr.
6	»	18	6,8 »	15,5 »		
	1 heure	»	4,8 »	16,3 »		
	»	»			7,2 »	25,3 »
	»				»	»
7	1 h. 1/2	17	8,2 »	18,8 »		
	1 heure	18	6,0 »	20,5 »		
	1 h. 1/2	17			10,8 »	25,4 »
	»	17,5			11,8 »	27,6 »
8	»	21	10,2 »	22,4 »		
	1 heure	20,5	6,8 »	23,0 »		
	1 h. 1/2	21			15,8 »	37,6 »
	1 heure	20,5			10,8 »	38,0 »
10	1 h. 3/4	18,6	16,0 »	36,4 »		
	1 heure	»	10,4 »	35,5 »		
	1 h. 1/2	»			13,6 »	32 »
	1 heure	»			8,8 »	30,9 »

Il semble que, dans ce dernier cas, l'énergie de la respiration atteint son maximum plus tôt que dans le premier cas.

Expérience N° 3.

8 bulbes *Allium ascalonicum*, poids 35,85 gr. sont épluchés et chacun d'eux est transpercé de 24 pointes en verre (diamètre 0,5-1,0 mm.), qui sont laissées dans la plaie, de sorte que les blessures sont bouchées. Parallèlement 8 bulbes, poids 39,6 gr. ne sont qu'épluchés. Les bulbes sont exposés à l'air.

Les bulbes transpercés accroissent leur respiration avec plus d'énergie, et cette énergie est plus durable que pour les bulbes, qui ne sont qu'épluchés.

Digitized by Google

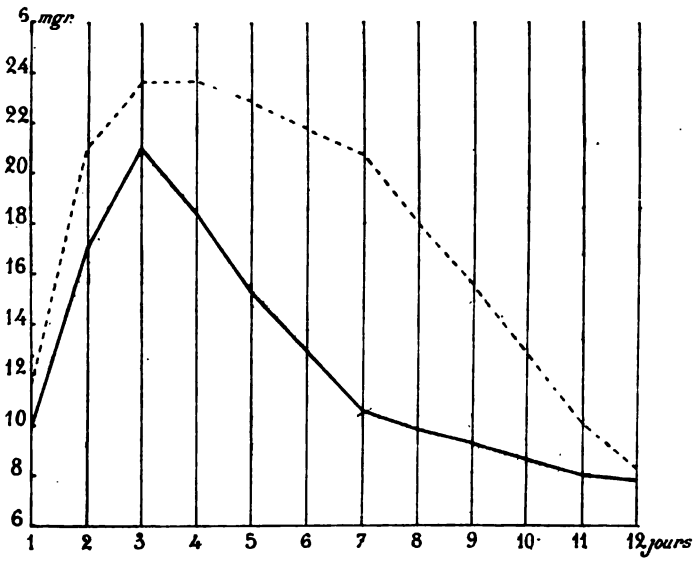


Fig. 10. — *Expérience N° 3* : I, les bulbes blessés; II, les bulbes épluchés.

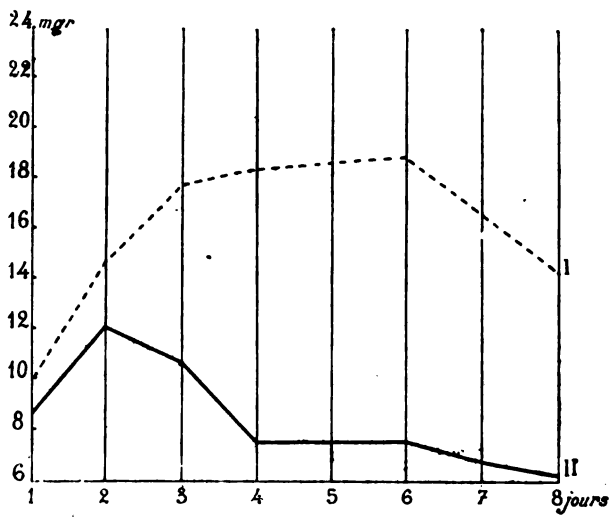


Fig 11 *Expérience N° 4* : I, Les bulbes blessés; II, les bulbes épluchés.

Digitized by Google

DATE	Durée de l'expérience	Température	Les bulbes blessés — CO_2 dégagé — Par le poids des objets en expérience	Les bulbes blessés — CO_2 dégagé — Par 100 gr. en 1 heure	Les bulbes non blessés — CO_2 dégagé — Par le poids des objets en expérience	Les bulbes non blessés — CO_2 dégagé — Par 100 gr. en 1 heure
9 $\frac{X}{1901}$	1 h. 1/2	20°4	6.8 mgr.	11,4 mgr.		
	1 1/2	»			5,2 mgr.	9,5 mgr.
10	2 1/2	21	20,8 »	21,0 »		
	1 1/2	»			8,8 »	16,6 »
11	1 1/2	20	13,8 »	23,6 »		
	1 heure	»	9,6 »	24,2 »		
	1 h. 3/4	»			12,0 »	22,0 »
	1 heure	19,7			7,2 »	20,0 »
12	1 h. 1/2	19	13,6 »	23,2 »		
	1 heure	19,5	9,5 »	24,0 »		
	1 h. 1/2	19			9,2 »	17,2 »
	1 heure	»			9,2 »	21,0 » (1)
13	1 h. 1/2	19	13,3 »	22,0 »		
	1 heure	»	9,0 »	22,7 »		
	1 h. 1/2	»			8,2 »	15,4 »
	1 heure	»			5,6 »	15,6 »
15	1 h. 1/2	»	12,4 »	20,8 »		
	1 heure	»	8,0 »	20,2 »		
	1 h. 1/2	19,4			6,0 »	11,8 »
	1 heure	19,8			4,8 »	12,3 »
19	1 h. 1/2	19	6,5 »	11,0 »		
	1 1/2	»	6,8 »	11,4 »		
	1 1/2	»			4,3 »	8,0 »
	1 1/2	»			4,6 »	8,2 »
20	1 heure	19	4,8 »	8,2 »		
	1 »	»			2,8 »	8,8 »

(1) Avant l'expérience les bulbes étaient lavés dans de l'eau froide (8°C.).

Expérience N° 4.

8 bulbes d'*Allium Ascalonicum*, poids 44,45 gr., sont épluchés et chacun d'eux est transpercé de 24 pointes en verre (diamètre 0,5-1,0 mm.), qui sont laissées dans les plaies, de sorte que les blessures sont bouchées. Parallèlement 8 bulbes, poids 45,5 gr., ne sont qu'épluchés. Les bulbes sont exposés à l'air.

Digitized by Google

DATE	Durée de l'expérience	Température	Les bulbes blessés — CO_2 dégagé — Par le poids des objets en expérience	Les bulbes blessés — CO_2 dégagé — Par 100 gr. en 1 heure	Les bulbes non blessés — CO_2 dégagé — Par le poids des objets en expérience	Les bulbes non blessés — CO_2 dégagé — Par 100 gr. en 1 heure
24 $\frac{X}{1901}$	1 h. 1/2	19°	6,4 mgr.	9,6 mgr.		
	1 heure	»	5,0	10,5		
	1 h. 1/3	18			5,2 mgr.	8,5 mgr.
	1 heure	»			3,8	8,0
25	1 h. 1/2	20	9,6	14,6		
	1 heure	»	7,6	14,8		
	1 heure	»			5,4	12,0
26	1 h. 3/4	19	13,8	17,6		
	1 heure	»	8,0	18,0		
	1 h. 1/2	18			6,3	9,4
	1 heure	19			3,8	9,0
27	1 h. 1/2	19,5	11,2	17,0		
	1 heure	»	8,4	18,8		
	1 h. 1/2	»			5,0	7,4
	1 heure	»			3,6	7,9
29	1 h. 1/2	19,8	12,8	18,7		
	1 heure	»	8,4	18.8		
	1 h. 1/2	19,5			5,2	7,6
	1 heure	»			3,6	7.9
30	1 h. 1/2	19	12,0	16,4		
	1 1/2	19			4,4	6,4
1 $\frac{XI}{1901}$	1 1/2	20,5	9,6	14,2		
	1 heure	»			2,8	6,1

Les bulbes transpercés accroissent leur respiration avec plus d'énergie, et cette énergie est plus durable que pour les bulbes qui ne sont qu'épluchés. Les bulbes transpercés eurent des racines le lendemain de l'expérience. Les bulbes non blessés n'eurent des racines que le cinquième jour.

II. Respiration intramoléculaire

Expérience N° 5.

La portion 48,05 gr. des bulbes d'*Allium Cepa*, coupés en 32 parties, respirait quotidiennement tantôt à l'air, tantôt dans l'hydrogène.

Digitized by Google

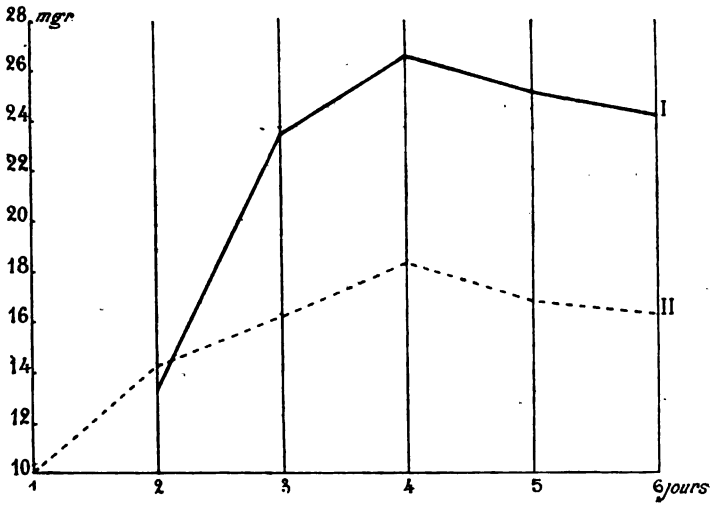


Fig. 12. — *Expérience N° 5* : I, La respiration normale; II, la respiration intramoléculaire.

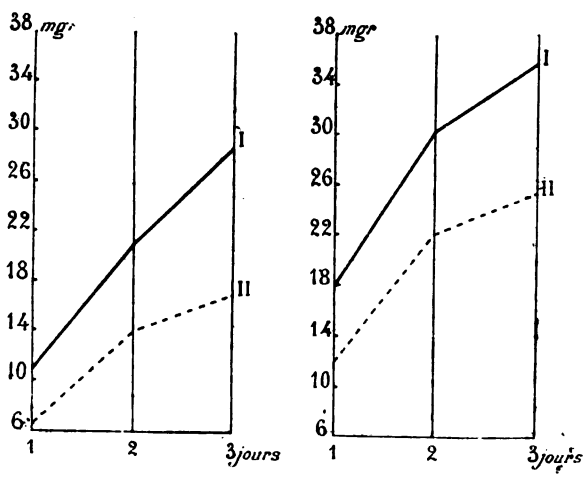


Fig. 13 et 14. — *Expérience N° 6* et *Expérience N° 7* : I, La respiration normale; II, la respiration intramoléculaire.

Digitized by Google

DATE	Durée de l'expérience	Température	La respiration normale — CO_2 dégagé — Par le poids des objets en expérience	La respiration normale — CO_2 dégagé — Par 100 gr. en 1 heure	La respiration intramoléculaire — CO_2 dégagé — Par le poids des objets en expérience	La respiration intramoléculaire — CO_2 dégagé — Par 100 gr. en 1 heure	Le rapport $\frac{J}{N}$
10 $\frac{XII}{1901}$	1 heure	21°			4,8 mgr.	10 mgr.	
	»	»			4,8 »	10,0 »	
11	»	19,2			6,8 »	14,15 »	
	»	»	6,4 mgr.	13,3 mgr. (1)			
12	»	19	11,2 »	23,3 »			0,65
	»	»			7,8 »	16,23 »	
13	»	19,5	12,8 »	26,6 »			0,65
	»	»			8,4 »	17,48 »	
14	»	17,2	12,0 »	25,0 »			
	»	18			7,8 »	16,23 »	0,64
	»	»			7,6 »	15,85 »	
15	»	19	11,5 »	24,2 »			
					7,6 »	15,85 »	0,65

(1) La respiration normale baisse plus que la respiration intramoléculaire probablement parce qu'on la faisait se produire après la respiration intramoléculaire, ce qui pouvait produire un certain trouble.

Dans ces deux cas, l'énergie de la respiration s'accroît graduellement et tombe presque proportionnellement.

Expérience N° 6

37,65 gr. d'*Allium Cepa*, coupées en 32 parties, respiraient quotidiennement tantôt à l'air, tantôt dans de l'hydrogène. La température 20°.

DATE	Durée de l'expérience	La respiration normale — CO_2 dégagé — Par le poids des objets en expérience	La respiration normale — CO_2 dégagé — Par 100 gr. en 1 heure	La respiration intramoléculaire — CO_2 dégagé — Par le poids des objets en expérience	La respiration intramoléculaire — CO_2 dégagé — Par 100 gr. en 1 heure	Le rapport $\frac{S}{J}$
22 $\frac{XII}{1901}$	1 heure	4,0 mgr.	10,62 mgr.			0,60
	1 »			2,4 mgr.	6,37 mgr.	
23	1 »	8,0 »	21,22 »			0,65
	1 »			5,2 »	13,8 »	
24	1 »	10,4 »	28,6 »			0,62
	1 »			6,4 »	17,0 »	

Digitized by Google

Expérience N° 7

31,1 gr. de bulbes d'*Allium sativum*, coupées en moitié respiraient quotidiennement tantôt à l'air, tantôt dans de l'hydrogène. La température 20°.

DATE	Durée de l'expérience	La respiration normale — CO_2 dégagé — Par le poids des objets en expérience	La respiration normale — CO_2 dégagé — Par 100 gr. en 1 heure	La respiration intramoléculaire — CO_2 dégagé — Par le poids des objets en expérience	La respiration intramoléculaire — CO_2 dégagé — Par 100 gr. en 1 heure	Le rapport $\frac{S}{N}$
22 $\frac{XII}{1901}$	1 heure	5,6 mgr.	18.0 mgr.			0,69
	1 »			4,0 mgr.	12,5 mgr.	
23	1 »	9,5 »	38,9 »			0,72
	1 »			7,2 »	22,2 »	
24	50 minut.	9,5 »	35,8 »			0,69
	1/2 h.			4,0 »	25,0 »	

L'énergie s'accroît proportionnellement dans les deux cas. Dans les expériences 5, 6 et 7, entre les expériences le sujet se trouvait dans un endroit obscur et humide, et respirait à l'air.

Dans les expériences 8 et 9 le sujet se trouvait dans une atmosphère continuelle d'hydrogène.

Expérience N° 8.

135,8 gr. coupées en 32 parties des bulbes d'*Allium Cepa* sont placées dans le récipient, par lequel on faisait un continuel courant d'hydrogène. L'appareil est placé dans le thermostat ; la température était 19°-20°.

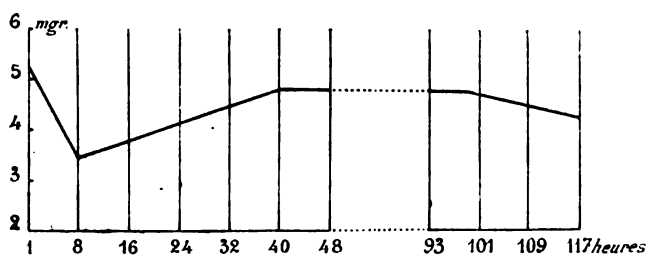


Fig. 15. — *Expérience N° 8* : La respiration intramoléculaire.

Digitized by Google

Temps écoulé depuis le commencement de l'expérience	La durée des expériences	CO_2 dégagé	
		Par le poids des objets en expérience	Par 100 grammes en 1 heure
»	1 heure	7,2 mgr.	5,3 mgr.
»	1 »	7,2 »	5,3 »
8 heures	1 »	4,8 »	3,5 »
	1/2 »	2,4 »	3,5 »
16 »	1 »	5,2 »	3,8 »
	1 »	5,2 »	3,8 »
24 »	1 »	5,6 »	4,1 »
	1 »	5,6 »	4,1 »
32 »	1 »	6,0 »	4,4 »
	1 »	6,0 »	4,4 »
40 »	1 »	6,4 »	4,7 »
	1 »	6,4 »	4,7 »
48 »	1 »	6,4 »	4,7 »
	1 »	6,4 »	4,7 »
55 »	1 »	6,5 »	4,7 »
	1 »	6,4 »	4,7 »
64 »	1 »	6,4 »	4,7 »
	1 »	6,4 »	4,7 »
99 »	1 »	6,4 »	4,7 »
	1/2 »	3,2 »	4,7 »
117 »	1 »	6,0 »	4,4 »
	1/2 »	3,0 »	4,4 »

On remarque d'abord un décroissement et ensuite un accroissement de la respiration, qui revient alors ensuite à son intensité primitive.

Expérience N° 9.

Des bulbes d'*Allium Cepa* pesant 261 gr. sont coupés et placés dans le récipient, par lequel on faisait un continuel courant d'hydrogène. L'appareil est placé dans le thermostat. La température était 18°-20°.

Digitized by Google

Le temps écoulé depuis le commencement de l'expérience	La durée des expériences	CO_2 dégagé	
		Par le poids des objets en expérience	Par 100 grammes en 1 heure
1 heure	1 heure	15,2 mgr.	5,8 mgr.
2 »	1 »	12,4 »	4,7 »
3 »	1 »	12,2 »	4,65 »
4 »	1 »	10,0 »	3,8 »
5 »	1 »	8,6 »	3,3 »
6 »	1 »	9,6 »	3,68 »
7 »	1 »	9,6 »	3,68 »
8 »	1 »	8,0 »	3,06 »
9 »	1 »	9,8 »	3,7 »
10 »	1 »	7,6 »	2,6 »
18 »	1 »	8,8 »	3,35 »
19 »	1/2 »	3,2 »	2,5 »
33 »	1/2 »	5,6 »	4,2 »
34 »	1 »	13,6 »	5,2 »
41 »	1 »	15,2 »	5,8 »
42 »	1 »	13,2 »	5,8 »

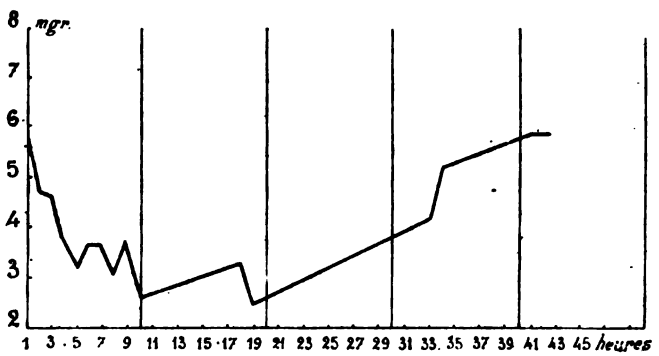


Fig. 16. — *Expérience N° 9* : La respiration intramoléculaire.

Les courbes ci-dessus donnent les résultats de toutes les expériences.

Dans ces courbes, les ordonnées représentent, en milligrammes, les quantités d'acide carbonique dégagées en une heure par 100 grammes de bulbes mis en expérience.

Digitized by Google

CONCLUSIONS

1) Toute blessure occasionne un accroissement d'intensité de la respiration normale. Le maximum se produit à peu près vers le quatrième jour. (Expériences nos 1, 2, 3, 4).

2) Les blessures n'occasionnent aucun accroissement d'énergie de la respiration intramoléculaire. La respiration intramoléculaire qui se produit par le séjour continu dans une atmosphère d'hydrogène, perd d'abord de son énergie ; ensuite elle s'accroît de nouveau et revient à son énergie première, de sorte qu'on ne constate pas la diminution absolue de la respiration intramoléculaire. (Expériences nos 8, 9).

3) La respiration intramoléculaire présente un caractère tout-à-fait différent, si dans les intervalles entre les expériences les bulbes blessés sont placés non dans de l'hydrogène, mais dans l'atmosphère normale. Dans ce cas les blessures occasionnent un accroissement d'énergie de la respiration intramoléculaire. Cet accroissement se fait à peu près proportionnellement à celui de la respiration normale. L'énergie de la respiration intramoléculaire des bulbes, qui ont été exposés à l'air, s'accroît probablement à cause des phénomènes de régénération qui se produisent à l'air. (Expériences nos 5, 6, 7).

4) L'accroissement de la respiration normale est la suite de l'excitation de la plante ; il en est de même de l'augmentation des matières protéiques non digestibles (d'après M. Kovchoff), mais on ne remarque pas d'étroite liaison entre ces deux phénomènes. (Expérience no 1).

5) Par le séjour continu dans l'atmosphère d'hydrogène (sans influence de l'oxygène) il n'y a ni augmentation de la respiration intramoléculaire, ni formation des matières protéiques non digestibles (1).

(1) Voir le travail de M. Kovchoff. (*Revue générale de Botanique*, 1902).

(Saint-Pétersbourg. — Laboratoire de la Physiologie végétale de l'Université).

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX

DE

PALÉONTOLOGIE VÉGÉTALE

PUBLIÉS DANS LE COURS DES ANNÉES 1897-1900

par M. R. ZEILLER (Suite).

C. — *Champignons.*

M. Meschinelli, bien connu par ses travaux sur les Champignons fossiles, a réuni en un volume (1) les descriptions de tous les représentants de cette classe observés à l'état fossile, y compris les Bactériacées ou Schizomycètes, en reproduisant pour chaque forme spécifique les figures originales. Ce travail, qui ne comprend pas moins de 407 espèces, rendra les plus grands services aux paléobotanistes en leur abrégeant les recherches et en leur donnant une liste bibliographique complète de tous les ouvrages où il a été parlé des Champignons fossiles.

Le même auteur a étudié en outre une série de Champignons (2) rencontrés sur les feuilles des gisements piémontais de Pavone d'Alexandrie dans le Tongrien et de Bra dans le Pliocène, parmi lesquels il a reconnu, en outre d'espèces déjà décrites, des formes spécifiques nouvelles appartenant aux genres *Sphærites*, *Rhytismites* et *Xylomites*.

Je ne reviendrai pas sur les Champignons observés, d'une part par M. Etheridge à l'intérieur de certains Polypiers dévoniens, d'autre part par M. Renault soit dans les cannels, soit dans les lignites ou les schistes bitumineux de diverses provenances, et dont j'ai parlé un peu plus haut. Je mentionnerai seulement les observations de M. Loomis (3) sur les perforations du test de certaines coquilles du Silurien de New-York, à l'intérieur desquelles il a reconnu de minces filaments, parfois renflés à leur extrémité, qu'il regarde comme des filaments mycéliens et qu'il rapporte au genre *Peronosporites*, en y distinguant trois formes spéci-

(1) L. Meschinelli : *Fungorum fossilium omnium hucusque cognitorum iconographia.* Vicence, in-4°, xx-144 p., 31 pl. 1898.

(2) L. Meschinelli : *Contributo alla micologia fossile. Su alcuni Funghi terziarii del Piemonte* (Atti R. Istit. veneto di sc., lett. ed arti, IX, p. 769-775, 2 pl. ; 1898).

(3) F.-B. Loomis : *Siluric Fungi from Western New-York* (Bull. N. Y. State Mus., VIII, p. 223-226, pl. 16; 1900).

Digitized by Google

fiques différentes. Je signalerai en outre, pour l'époque houillère, un Champignon reconnu par M. Butterworth (1) sur un rachis de Fougère du terrain houiller d'Oldham, et que l'auteur compare, sans le nommer, à certains Champigons parasites de la Pomme de terre; pour l'époque crétacée, des Champignons observés par M. Bayer (2) sur des feuilles du Cénomanien de la Bohême et rapportés par lui aux genres *Cercospora* et *Phacidium*; enfin, pour l'époque tertiaire, un Champignon observé par M. Keller (3) sur des feuilles de Peuplier de l'Oligocène du canton de St.-Gall, et nommé par lui *Linosporoidea populi*, à raison de la ressemblance de ses périthèces avec celles du *Linospora populina* actuel; ainsi que de nouvelles formes spécifiques de Champignons parasites de genres divers, reconnues par MM. Engelhardt et Menzel sur des feuilles de l'Aquitanien de la Bohême.

D. — Muscinées.

En dehors d'une discussion entre M. Amaturi (4) et M. de Gasparis (5) sur l'attribution d'empreintes du Trias supérieur décrites par ce dernier il y a peu d'années sous le nom de *Bassania keuperiana* et qu'il maintient comme appartenant aux Hépatiques, je n'ai à citer, comme travaux spéciaux relatifs aux Muscinées, que deux courtes notes sur de nouvelles formes spécifiques de Mousses : un *Rhynchostegium* du Tertiaire des Etats-Unis observé par M. Britton (6), et un *Hypnum* provenant d'un dépôt tourbeux de Hongrie signalé par M. Schilbersky (7). J'y ajouterai toutefois la mention de deux espèces nouvelles de *Hypnum*, établies par M. Engelhardt sur des empreintes de l'Aquitanien de Berand (8) en Bohême.

(1) J. Butterworth : *Exhibit of a Fungus attached to a fossil Fern of the Coal-measures found near Oldham* (Mem. and Proc. Manchester lit. and phil. Soc., XLIII, p. xxi; 1899).

(2) E. Bayer : *Einige neue Pflanzen aus den Perucer Kreideschichten* (Sitzungsber. k. böhm. Ges. d. Wiss., 1899, Nr. XXVI).

(3) R. Keller : *Beiträge zur Tertiärflora der Kantons St. Gallen (Dritte Mittheilung)* (Ber. St. Gall. naturw. Ges., 1894-95, p. 296-324, pl. I-XI; 1896).

(4) N. Amaturi : *Su alcune impronte del trias* (Bull. Soc. Bot. Ital., 1898, p. 126-127).

(5) A. de Gasparis : *Lettera in risposta ad alcune osservazioni del prof. Amaturi* (Bull. Soc. Bot. Ital., 1898, p. 193-194).

(6) E.-G. Britton : *A new tertiary fossil moss* (Rhynchostegium Knowltoni) (Bull. Torrey bot. Club, 1899, p. 79-81, 1 fig.).

(7) K. Schilbersky : *Eine* Hypnum-*Art aus dem Torflager von Kecskemét* (Botan. Centralbl., LXXXI, p. 337; 1900).

(8) H. Engelhardt : *Die Tertiärflora von Berand im böhmischer Mittelgebirge* (Abh. deutsch. naturw.-med. Ver. f. Böhmen Lotos, I, Heft 3; 1898).

Digitized by Google

III. — Végétaux Paléozoïques.

A. — *Études des flores paléozoïques.*

Une des principales applications de la paléontologie végétale consiste, on le sait, dans la détermination de l'âge des gisements de plantes fossiles, et en particulier des plus importants d'entre eux au point de vue pratique, les gisements houillers, pour lesquels elle permet notamment de préciser le niveau relatif des différents faisceaux d'un même bassin et de les distinguer les uns des autres, malgré les dérangements qu'ils ont pu subir, d'après les caractères de la flore qu'ils renferment. Il a paru utile à quelques paléobotanistes ou géologues, M. Potonié, M. Stirrup et moi (1), de signaler à l'attention des exploitants de mines de houille, souvent un peu sceptiques à cet égard, les services que peut ainsi leur rendre la paléobotanique, en leur rappelant les résultats utiles obtenus sur plus d'un point, par exemple dans le bassin de Saint-Eloy et dans celui du Gard, et l'intérêt qu'il y a, pour l'industrie houillère aussi bien que pour la science, à ce que les empreintes végétales fixent davantage l'attention et fassent l'objet de récoltes plus suivies et plus méthodiques.

C'est également dans le but de faciliter aux exploitants et aux géologues l'utilisation des empreintes houillères que MM. Hofmann et Ryba ont réuni en un volume, accompagné de bonnes planches phototypiques (2), les diagnoses des types végétaux les plus caractéristiques de la formation houillère de l'Europe centrale, en indiquant leur répartition géologique et rappelant la composition particulière de la flore de chaque niveau. Il y a lieu, malheureusement, ainsi que l'a fait remarquer M. F. Kaunhowen (3), de regretter les erreurs assez nombreuses qui déparent cet ouvrage, plusieurs des espèces figurées étant indiquées sous des noms inexacts, soit par suite de déterminations erronées, soit à raison du maintien de dénominations rectifiées cependant depuis longtemps par les paléobotanistes les plus autorisés, et les indications botaniques contenues dans le texte n'étant pas toujours, non plus que les renseignements relatifs à la répartition stratigraphique des espèces,

(1) R. Zeiller : Préface *à la Notice sur le* Musée Géologique des bassins houillers belges *par le R, P. G. Schmitz* (*Expos. internat. de Bruxelles. 1897*).— H. Potonié : *Die Pflanzengeologie im Dienste des Bergbaues* (Zeitsch. f. prakt. Geol., 1898, p. 238-248, 35 fig.); *Pflanzen-Vorwesenkunde im Dienste des Steinkohlen-Bergbaues.* In-8°, 31 p., 25 fig. (Der Bergmannsfreund, 1899). — M. Stirrup : *On the value of the fossil plants of the Coal Measures as stratigraphical guides* (Trans. Manchester Geol. Soc., XXVI, p. 180-192; 1899).

(2) A. Hofmann und F. Ryba : *Leitpflanzen der palaeozoischen Steinkohlenablagerungen in Mittel-Europa.* Prague, J. C. Calve. In-8°, 108 p., 3 tabl. Atlas in-fol. de 20 pl. 1899.

(3) F. Kaunhowen : *Zeitschr. f. prakt. Geol.*, 1900, p. 122-124.

Digitized by Google

conformes aux données actuelles de la science. Il serait à souhaiter, pour que cet ouvrage, d'ailleurs bien conçu, pût rendre les services qu'on serait en droit d'en attendre, que les auteurs le complétassent par un appendice renfermant toutes les rectifications et corrections nécessaires.

On avait, il y a quelques années, signalé dans les gneiss du massif du Saint-Gothard un tronc fossile, dont la présence eût paru inconciliable avec les idées admises sur la genèse de ces roches, si l'on n'avait en même temps émis des doutes sur l'âge de ces gneiss, présumant qu'ils pouvaient représenter des roches carbonifères fortement métamorphisées : le problème vient d'être résolu par les recherches de MM. E. von Fellenberg et Schmidt-Basel (1) qui ont reconnu, dans le prétendu tronc fossile de Guttannen, un simple *ludus* inorganique, une inclusion d'amphibolite affectant la forme de cylindre aplati, mais d'origine purement minérale.

La flore dévonienne n'a fait l'objet, dans ces quatre dernières années, que de trois courtes notes, l'une de MM. Reid et Macnair (2), qui ont indiqué la répartition stratigraphique des genres *Psilophyton*, *Zosterophyllum* et *Parka* dans les différents étages du Dévonien d'Ecosse ; une autre de M. Kidston (3), qui a étudié un fragment de tige à structure conservée provenant du Dévonien inférieur de ce même pays et n'y a observé que du tissu parenchymateux avec des groupes de cellules plus petites et plus fortement colorées ; il ne doute pas qu'il s'agisse là d'une plante cryptogame, mais l'absence d'éléments vasculaires dans le fragment en question ne lui paraît pas un argument suffisamment décisif pour lui permettre de conclure à l'attribution aux Algues ; il lui a imposé le nom générique de *Cryptoxylon*. Enfin M. Dun (4) a étudié la florule des couches dévoniennes de la Genoa River, dans la Nouvelle-Galles du Sud, et y a reconnu à côté d'espèces déjà observées sur le même niveau, un *Sphenopteris* et un *Pecopteris* nouveaux, mais ce dernier d'attribution fort douteuse.

M. Nathorst (5) a exploré à nouveau, au cours de l'expédition

(1) E. v. Fellenberg und C. Schmidt-Basel : *Neuere Untersuchungen über den sogenannten Stamm im Gneiss von Guttannen* (Mitth. d. naturf. Ges. in Bern, 1898, p. 81-93, 7 pl.)

(2) J. Reid and P. Macnair : *On the genera Psilophyton, Lycopodites, Zosterophyllum and Parka decipiens of the Old Red Sandstone of Scotland; their affinities and distribution* (Trans. Edinburgh geol. Soc., VII, p. 368-380, pl. XXI, XXII ; 1899).

(3) R. Kidston : *On Cryptoxylon forfarense, a new species of fossil plant from the Old Red Sandstone* (Proc. Roy. Phys. Soc. Edinburgh, XIII, p. 360-363, pl. VIII, IX ; 1897).

(4) W. S. Dun : *On the occurrence of Devonian plant-bearing beds on the Genoa River, County of Auckland* (Rec. Geol. Surv. N. S. W., V, p. 117-120, pl. X, XI ; 1897).

(5) A. G. Nathorst : *Ueber die oberdevonische Flora (die « Ursaflora ») der Bären Insel* (Bull. Geol. Instit. Upsala, IV, p. 152-156, pl. V, VI ; 1900).

Digitized by Google

arctique qu'il a dirigée en 1898, les gisements de l'Ile des Ours, qui forment passage entre le Dévonien et le Culm, et qu'il classe définitivement au sommet du Dévonien supérieur : il y a recueilli, avec un *Archæopteris* nouveau à pinnules frangées, *Arch. fimbriata*, des rameaux articulés, dilatés aux articulations et portant des feuilles verticillées, ou peut-être seulement opposées à chaque nœud, à limbe profondément divisé par plusieurs dichotomies successives, à bord découpé ou déchiré en fines franges capillaires, mais à nervation indistincte ; ces rameaux, avec lesquels ont été trouvés de longs épis de fructification, malheureusement mal conservés, appartiennent au *Pseudobornia ursina* et justifient la séparation que l'auteur avait faite de ces tiges, d'avec l'*Asterocalamites radiatus*, auquel Heer les avait originairement attribuées. Il est porté à voir dans ce type encore ambigu une Sphénophyllée plutôt qu'une Equisétinée, à moins qu'il ne s'agisse d'une forme intermédiaire entre ces deux groupes, susceptible d'être rapprochée des Protocalamariacées de M. Potonié.

De nouvelles recherches, assez nombreuses, ont été faites sur la flore du Culm, terme inférieur de la série houillère, tant en France qu'à l'étranger : M. Vaffier (1) a annoncé la découverte dans le Mâconnais, à Fuissé, d'un riche gisement renfermant de nombreuses espèces du Culm inférieur ; M. B. Renault (2) a résumé l'ensemble de ses observations sur la flore du Culm d'Esnost, dans l'Autunois ; M. Ed. Bureau (3) a donné les listes des espèces dont il a reconnu la présence dans le Culm supérieur de la Basse-Loire, en les accompagnant des diagnoses de plusieurs formes spécifiques nouvelles, appartenant aux genres *Sphenopteris (Hymenophyllum?)*, *Caulopteris*, *Sphenophyllum* et *Bornia*; il y a joint en outre le catalogue des espèces observées dans les petits bassins westphaliens de la même région.

En Allemagne, MM. Leyh (4), K. von Fritsch (5) et F. von Kerner (6) ont étudié la flore de divers gisements du Culm inférieur ; M. K. von Fritsch notamment a fait connaître, des ardoises du Culm de la Thuringe, quelques espèces nouvelles, qu'il a rapportées aux genres *Sphenopteris*, *Cardiopteris* et *Odontopteris*, cette dernière attribution,

(1) Vaffier : *Sur le terrain carbonifère des environs de Mâcon* (C. R. Acad sc., CXXV, p. 262-265 ; 1897).

(2) B. Renault : *Étude du gisement d'Esnost* (C. R. Congrès Soc. sav., 1898, p. 233-248).

(3) Ed. Bureau, *in* L. Bureau : *Notice sur la géologie de la Loire-Inférieure* (Nantes et la Loire-Inférieure, III, p. 99-522 ; 1900).

(4) C. F. Leyh : *Beiträge zur Kenntniss des Paläozoicum der Umgegend von Hof a. Saale* (Zeitsch. deutsch. geol. Ges., XLIX, p. 504-560, pl. XVII, XVIII ; 1897).

(5) K. v. Fritsch : *Pflanzenreste aus Thüringer Culm-Dachschiefer* (Zeitschr. f. Naturwiss., LXX, p. 79-102, 3 pl. ; 1897).

(6) F. v. Kerner : *Neuer Pflanzenfund im mährisch-schlesischen Dachschiefergebiete* (Verh. k. k. geol. Reichsanst., 1898, p. 333-335).

Digitized by Google

quelque peu insolite à un niveau aussi bas, demeurant toutefois sujette à caution, la forme même des pinnules, nettement contractées à la base, faisant penser beaucoup plutôt à une Névroptéridée qu'à une Odontoptéridée.

J'ai moi-même étudié, sur les échantillons recueillis par M. Ralli (1), la flore fossile du bassin d'Héraclée, en Asie Mineure, qui comprend une série de faisceaux appartenant, partie au Culm, partie au Westphalien inférieur, et les plus élevés formant passage entre le Westphalien et le Stéphanien. Les empreintes provenant du faisceau inférieur, ou faisceau d'Aladja Agzi, m'ont offert les espèces caractéristiques du Culm supérieur, accompagnées du rare *Lepidodendron acuminatum* qui n'avait été observé encore que dans le Culm inférieur, et qui n'était qu'assez imparfaitement connu; j'ai décrit en outre de ce même niveau un *Sphenopteris* et un *Sphenophyllum* nouveaux. Je reviendrai plus loin sur la flore des faisceaux supérieurs.

Peut-être faut-il également rapporter au Culm certains gisements du Kan-Sou, en Chine, où M. Obrutschew a recueilli des fragments de frondes simplement pinnées, que M. Krasser (2) a classés avec doute dans le genre *Nœggerathia*, comme espèce nouvelle, *Nœg. acaminifissa*, mais qui me sembleraient avoir leur place plus naturellement marquée dans le genre *Archæopteris* ou dans le genre *Rhacopteris*.

Dans la Nouvelle-Galles du Sud, M. Dun (3) a exploré les couches à plantes du Culm de Paterson, et y a observé, avec les espèces déjà connues de ce groupe de gisements, de grandes pinnules cycloptéroïdes, qu'il a rapprochées des *Cardiopteris*, mais dont l'attribution demeure quelque peu incertaine.

M. H. M. Ami (4) rapporte de même au Culm, d'accord avec M. Kidston et d'après ses déterminations, les couches de Riversdale et de Harrington River en Nouvelle-Ecosse, qui renferment une série d'espèces déjà observées par Dawson à la base du Carbonifère du

(1) G. Ralli : *Le bassin houiller d'Héraclée* (Ann. Soc. Géol. de Belgique, XXIII, p. 151-267 ; 1897). — R. Zeiller : *Étude sur la flore fossile du bassin houiller d'Héraclée* (*Asie Mineure*) (Mém. Soc. Géol. Fr., Paléont., VIII-IX, Mém. n° 21, 91 p., 6 pl. ; 1899).

(2) F. Krasser : *Die von W. A. Obrutschew in China und Centralasien 1893-1894 gesammelten fossilen Pflanzen* (Denkschr. k. Akad. Wiss. Wien, L. XX, p. 139-154, 4 pl. ; 1900).

(3) W. S. Dun : *Annual Report of the Assistant Palaeontologist* (Ann. Rep. Dep. Mines N. S. W., 1898, p. 189-192) ; *On the occurrence of a cyclopteroid Fern, closely allied to the European Cardiopteris polymorpha Göpp. in the Carboniferous of New South Wales* (Rec. Geol. Surv. N. S. W., VI, p. 107-111, pl. XV ; 1899).

(4) H. M. Ami : *On the subdivisions of the Carboniferous System in Eastern Canada* (Trans. Nova Scotian Inst. of sci., X., p. 162-178 ; 1900) ; *On the occurrence of a species of Whittleseya in the Riversdale-Formation* (*Eocarboniferous*) *of the Harrington River* (Ottawa Nat., XIV, p. 99-100 ; 1900).

Digitized by Google

Canada, et dans lesquelles il a constaté en outre la présence du genre *Whittleseya*, qui semble bien caractéristique de ce niveau.

Aux Etats-Unis, M. David White (1) a fait une étude détaillée de la flore des différents faisceaux de la série de Pottsville, dans le bassin méridional à anthracite de la Pensylvanie. Il y a reconnu à la fois des espèces du Culm et des espèces westphaliennes, les premières se montrant à peu près seules dans la zone inférieure, la zone moyenne offrant un mélange des unes et des autres, et les dernières dominant dans la zone supérieure, à laquelle succèdent immédiatement les *Lower Coal Measures*. La zone inférieure, *Lower Lykens division*, paraît ainsi correspondre au Culm supérieur d'Europe, aux couches d'Ostrau-Waldenburg, la zone moyenne, *Upper Lykens division*, formant passage entre le Culm et le Westphalien, et la zone supérieure, *Upper Intermediate division*, pouvant être assimilée à la zone inférieure du Westphalien. M. White a reconnu dans cette flore de Pottsville plusieurs espèces nouvelles, dont il a décrit et figuré les plus remarquables, appartenant aux genres *Sphenopteris*, *Eremopteris*, *Mariopteris*, *Alethopteris*, *Aneimites*, *Nevropteris*, *Sphenophyllum*, et *Whittleseya*. Une constatation intéressante est celle de la similitude de cette flore de Pottsville, et plus particulièrement de la flore de la division supérieure de Lykens, avec la flore de St-John dans le Nouveau Brunswick, que Sir W. Dawson a décrite comme appartenant au Dévonien moyen et que M. White regarde comme devant probablement être reportée désormais à un niveau beaucoup plus élevé, assimilable au Millstone Grit.

Le R. P. G. Schmitz a fait connaître (2) la composition de la flore des charbonnages de Mariemont et Bascoup, dans le bassin du Centre de la Belgique, et a montré qu'elle correspondait à la zone moyenne du Westphalien.

M. R. Kidston (3) a, d'autre part, procédé à de nouvelles recherches sur la flore westphalienne moyenne du Yorkshire ainsi que sur la flore du Westphalien moyen et supérieur du bassin des Potteries, dans le North Staffordshire; il a, dans ce dernier, entre autres observations intéressantes, reconnu la présence, dans les *Middle Coal Measures*, du rare *Odontopteris Cœmansi*, qui n'avait encore été observé qu'à Sarrebrück.

J'ai moi-même étudié la flore des couches westphaliennes du

(1) D. White : *The stratigraphic succession of the fossil Floras of the Pottsville Formation in the Southern Anthracite Coal Field, Pennsylvania* (20th Ann. Rep. U. S. Geol. Surv., pt. II, p. 749-930, pl. CLXX-CXCIII ; 1900).

(2) G. Schmitz : *Musée Géologique des bassins houillers belges*. Namur. In 8°, 72 p. (*Expos. internat. de Bruxelles 1897*).

(3) R. Kidston : *The Yorkshire Carboniferous Flora; sixth report* (Trans. Yorksh. natur. Union, pt. 21, p. 174-176 ; 1898) ; *Additional records and notes on the fossil Flora of the Potteries Coal Field* (Trans. North Staffordsh Field Club, 1897, 9 p.).

Digitized by Google

bassin houiller d'Héraclée (1), et j'ai été amené à y reconnaître deux groupes bien distincts : le groupe le plus ancien, renfermant les formes habituelles du Westphalien inférieur, comprend deux faisceaux, le faisceau des Kilits et le faisceau de Coslou, le premier intermédiaire entre celui-ci et le Culm, et contenant quelques espèces un peu plus anciennes que celui de Coslou, lequel passe déjà à son sommet au Westphalien moyen. Le groupe le plus élevé, représenté par le faisceau des Caradons, m'a offert un mélange de types westphaliens et stéphaniens qui m'a permis de l'assimiler à la zone la plus élevée du Westphalien, et en particulier aux niveaux de Radstock en Angleterre et de Geislautern dans le bassin de la Sarre. J'ai fait connaître, de ces couches westphaliennes d'Héraclée, un certain nombre d'espèces nouvelles appartenant aux genres *Sphenopteris*, *Pecopteris*, *Alethopteris*, *Linopteris*, *Sphenophyllum*, *Phyllotheca* et *Sigillaria*, et deux curieux types génériques d'appareils fructificateurs, *Potoniea* et *Plinthiotheca*. Je reviendrai plus loin sur ceux-ci, ainsi que sur un nouveau genre de fructification de Fougère établi sur un *Sphenopteris* de Coslou, et sur le *Phyllotheca*, *Phyl. Rallii*, que j'avais déjà mentionné, d'ailleurs, dans le précédent compte-rendu. J'ai pu, en même temps, établir l'absence, dans la flore houillère d'Héraclée, du genre *Glossopteris*, qui y avait été indiqué par Schlehan et par Etheridge, et montrer que ces indications provenaient d'une confusion de noms génériques et qu'il s'agissait, en réalité, dans un cas de *Linopteris* et dans l'autre de *Lepidophyllum*.

La flore houillère du Steinacherjoch en Autriche, étudiée par M. F. von Kerner (2), renferme, comme celle du faisceau des Caradons du bassin d'Héraclée, un remarquable mélange d'espèces stéphaniennes et westphaliennes et doit être rapportée au même niveau ; l'auteur y signale, d'après une détermination de Stur, la présence du genre vivant *Lygodium*, représenté par une foliole deux fois bifurquée, à nervation névroptéroïde, qu'il me semblerait plus naturel de regarder comme une pinnule anomale de Névroptéridée, certains *Nevropteris* ayant déjà offert des formes quelque peu analogues ; il fait connaître en outre une nouvelle espèce de *Lepidophyllum*, *Lep. Pichleri*, qui me paraît identique au *Lep. triangulare* du bassin de Valenciennes.

M. David White, dont j'ai déjà cité le travail sur la flore de la série de Pottsville, a poursuivi ses recherches sur les flores houillères des Etats-Unis et a publié notamment une très belle et très intéressante monographie de la flore des *Lower Coal Measures* du Missouri (3), dont

(1) R. Zeiller : *Étude sur la flore fossile du bassin houiller d'Héraclée (Asie Mineure)*. 1899.

(2) F. v. Kerner : *Die Carbonflora des Steinacherjoches* (Jahrb. k. k. Reichsanst., XLVII, p. 365-386, pl. VIII-X ; 1897).

(3) D. White : *Age of the Lower Coal of Henry County, Missouri* (Bull. Soc. Geol. Amer., VIII, p. 287-304 ; 1897) ; *Fossil Flora of the Lower Coals of Missouri*. In-4°, XI-467 p ; 73 pl. (Monogr. U. S. Geol. Surv., vol. XXXVII ; 1899).

Digitized by Google

il a fait ressortir la parfaite similitude de composition avec celle de la zone supérieure du bassin de Valenciennes et de la *Transition series* d'Angleterre. Outre les espèces typiques de cette flore, il a observé dans ces couches du Missouri un assez grand nombre de formes spécifiques nouvelles, appartenant aux genres *Eremopteris*, *Sphenopteris*, *Aloiopteris*, *Pecopteris*, *Linopteris*, *Sphenophyllum*, *Lepidophloios* et *Lepidophyllum* ; je mentionnerai en particulier le *Lepidophloios Van Ingeni*, remarquable par ses très grands coussinets foliaires, et le *Lepidophyllum missouriense*, à énormes bractées, parfois encore réunies en cône, qui paraît représenter l'organe fructificateur de ce *Lepidophloios*. Deux genres nouveaux sont établis, l'un sous le nom de *Brittsia*, pour des frondes filicoïdes, à pennes larges, d'apparence quelque peu charnue, rappelant à la fois le *Zygopteris pinnata* et les *Aphlebia* ; l'autre, sur lequel je reviendrai plus loin, sous le nom d'*Omphalophloios*, pour le *Lepidodendron cyclostigma* Lesq. Je citerai encore une forme nouvelle du curieux genre *Tæniophyllum*, qui donne à penser, comme l'indique l'auteur, que les affinités de ce genre pourraient bien être du côté des Stigmariées.

M. D. White a étudié en outre (1) les flores houillères des séries de l'Allegheny et de la Kanawha, ainsi que celle du bassin de Mac-Alester sur le territoire Indien ; il a reconnu dans l'*Allegheny series* les flores des deux groupes inférieurs, de Clarion et de Kittanning, comme correspondant à celle de la *Transition series* d'Angleterre, tandis que la flore du groupe supérieur de Freeport renferme déjà des types stéphaniens assez nombreux et peut être assimilée à celle des *Upper Coal Measures* anglais ; dans la *Kanawha series*, la flore des couches les plus élevées est à peu près semblable à celle du groupe de Freeport, celle du groupe de Stockton paraît correspondre à celle des groupes de Kittanning et de Clarion, mais la flore du groupe inférieur, *Lower Kanawha*, offre un caractère un peu plus ancien et indique le Westphalien moyen, allant peut-être même jusqu'au Westphalien inférieur. De même, dans le bassin de Mac-Alester, la flore du faisceau inférieur de Grady offre les caractères de celle des *Middle Coal Measures* de la Grande-Bretagne, celle des couches mêmes de Mac-Alester étant de nature à faire assimiler celles-ci aux *Upper Coal Measures*, et celle du faisceau supérieur paraissant, quoique très imparfaitement connue, franchement stéphanienne. M. D. White a reconnu dans ce bassin de Mac-Alester quelques espèces nouvelles, des genres *Sphenopteris*, *Mariopteris*, *Pecopteris*, *Sphenophyllum* et *Lepidodendron*, qu'il a décrites et figurées.

La flore stéphanienne supérieure de Wettin en Saxe a fait, de la

(1) D. White : *Relative ages of the Kanawha and Allegheny series as indicated by the fossil plants* (Bull. Geol. Soc. Amer., XI, p. 145-178; 1900) ; *Report on fossil plants from the Mc Alester Coal Field, Indian Territory* (19th Ann. Rep. U. S. Geol. Surv., pt. III, p. 457-538, pl. LXVII-LXVIII ; 1899).

Digitized by Google

part de M. K. von Fritsch (1), l'objet de quelques recherches, qui l'ont amené à y signaler trois formes spécifiques nouvelles : une graine du genre *Rhynchogonium*, une curieuse inflorescence rapportée, mais avec doute, au genre *Conchophyllum*, auquel il est fort douteux en effet qu'elle appartienne, et un *Bothrodendron* que l'auteur n'a pas figuré, mais qui, d'après la diagnose qu'il en donne, paraît devoir être identique au *Bothr. sparsifolium* Weiss, de ce même gisement de Wettin.

M. Grigoriew, malheureusement enlevé depuis peu à la science, a également assimilé à la flore stéphanienne supérieure la flore observée par lui dans les faisceaux supérieurs du bassin du Donetz dans le district de Bakhmout (2) ; il y a rencontré une forme nouvelle de *Nevropteris*, affine au *Nevr. cordata*, dont elle ne semble différer que par sa nervation extrêmement fine et serrée, qui la rapproche du *Nevr. Zeilleri* Lima de la flore permienne.

(1) F. Beyschlag und K. v. Fritsch : *Das jüngere Steinkohlengebirge und das Rothliegende in der Provinz Sachsen und den angrenzenden Gebieten* (Abh. k. preuss. Landesanst., Nr. 10, XXII-266 p. av. fig., 2 pl. ; 1900).

(2) N. Grigoriew : *Sur la flore paléozoïque supérieure recueillie aux environs des villages Troïtskoïé et Louganskoïé dans le bassin du Donetz* (Bull. Com. Géol. St-Pétersbourg, XVII, p. 381-425, pl. IV ; 1898).

(A suivre).

450 — Lille, imp Le Bigot frères Le Gérant : Th. Clerquin

Digitized by Google

RECHERCHES CYTOLOGIQUES

SUR

LES LEVURES

par M. A. GUILLIERMOND

(Planches 1 a 9).

I. — INTRODUCTION (1)

A. — Historique.

Les perfectionnements de la technique histologique ont permis depuis quelques années d'aborder les problèmes ardus de la structure des organismes monocellulaires. Les résultats obtenus chez un certain nombre de Protozoaires et d'Algues paraissent aujourd'hui définitivement établis et ont démontré dans ces organismes élémentaires la présence toujours constante d'un noyau.

Cependant, malgré de très nombreuses observations publiées surtout depuis une vingtaine d'années, la question de la structure des levûres et particulièrement de leur noyau, est restée très obscure. La plupart des auteurs qui ont étudié ce sujet n'ont abouti à autre chose qu'à des résultats contradictoires.

Schleiden (1845), Nœgeli (1846), Schmitz (1879), Zalewsky (1885), Hansen (1886), Strasburger (1886), Zacharias (1887), Zimmermann (1887), Kunstler et Busquet (1890) arrivent à différencier dans chaque cellule de levûres un corps sphérique, généralement homogène, qu'ils considèrent comme noyau.

Au contraire Brücke (1861) et Krasser (1881-1893) ne parviennent pas à colorer le noyau et considèrent les levûres comme constituées d'un archiplasme, c'est-à-dire d'un mélange de cytoplasme et

(1) En ce concerne l'historique et la technique, voyez : Guilliermond. — *Recherches cytologiques sur les levûres* (Thèse de doctorat ès-sciences de l'Université de Paris).

Digitized by Google

de nucléine, celle-ci se différenciant parfois sous forme de granulations. Raum (1891), de son côté, ne peut pas démontrer la présence du noyau : il observe des granulations possédant une vive affinité pour les colorants et qui paraissent donner naissance aux spores par leur concentration et leur fusion. Il les désigne pour cela sous le nom de *grains sporogènes*, en les comparant à des corps analogues trouvés par Ernst dans les Bactéries.

Hiéronymus (1893) figure une structure particulière qu'il avait déjà constatée chez les Phycochromacées, avec un fil central (*centralfaden*) traversant la cellule de part en part et formé de grains de chromatine.

Moeller (1892-1893) au contraire, remarque dans chaque cellule un noyau homogène, à contour irrégulier, doué de mouvements amiboïdes. Dangeard (1893) et Henneguy (1896) décrivent un noyau constitué d'un nucléole et d'un nucléoplasme incolore limité par une membrane.

Beyerinck (1894), B. Fischer et Brebeck (1894) se rangent également parmi les partisans du noyau.

Maffuci et Sirleo signalent la présence d'un noyau occupant la plus grande partie de la cellule, formé d'un nucléoplasme hyalin, renfermant des granules chromatiques.

Roncali (1895) considère les levûres comme constituées d'un cytoplasme hyalin, rempli de grains de chromatine, et d'une mince couche périphérique de cytoplasme opaque.

Eisenschitz (1895) décrit une vacuole renfermant des granules chromatiques, qui représenterait un noyau à un stade primitif de son évolution. Curtis (1895) et Macallum (1896) admettent que les levûres sont dépourvues de noyau et contiennent des granules chromatiques disséminées dans le cytoplasme.

Crato (1896), Buscalioni (1896), Errera et Laurent (1897), Casagrandi (1897), Bouin (1898) différencient au contraire un noyau. Ziemann (1898) en observe plusieurs par cellule.

Janssens et Leblanc (1898) décrivent un noyau vacuolaire, composé d'un nucléoplasme incolore, d'une membrane d'enveloppe, de granules chromatiques et d'un nucléole.

En présence de ces divergences de vues, Wager (1898) se décide à reprendre l'étude de la structure des levûres, et, dans un remarquable travail, il signale : 1° un corps sphérique, homogène, *corps*

Digitized by Google

du noyau (noyau des auteurs), qu'il considère comme un nucléole ; 2° une vacuole, *vacuole nucléaire*, toujours accolée à ce nucléole et remplies de granules très colorables qu'il assimile à des grains de chromatine. Le noyau de ces organismes serait donc réduit à l'état d'une simple vacuole, remplie de granules chromatiques, et d'un nucléole périphérique. Cet état représenterait un stade primitif du développement plylogénétique du noyau. Wager, ayant cru remarquer une organisation analogue dans une Mucorinée, pense que cette structure serait peut-être commune aux Champignons inférieurs.

Cette interprétation toute nouvelle avait l'avantage de concilier les deux opinions contraires qui partageaient les auteurs ; elle parut un instant résoudre la question. Néanmoins Wager n'avait étudié qu'un petit nombre de levûres et il restait encore bien des points obscurs. Aussi, malgré la difficulté de cette étude, avons-nous pensé qu'il serait utile de chercher à vérifier ces observations et d'essayer par de méticuleuses recherches à débrouiller cette question si confuse.

B. — Méthodes et technique.

Pour cela nous avons employé une méthode différente de celles de nos devanciers : elle a consisté à commencer par observer de très près les différents stades du développement cytologique de moisissures, que leurs dimensions rendaient plus facile à étudier que les levûres, et a en différencier méthodiquement les éléments figurés de la cellule. Afin d'éviter les chances d'erreurs, au lieu de ne nous servir que d'un seul procédé de fixation et de coloration, nous en avons toujours employé comparativement un très grand nombre.

Partant de cette méthode, nous avons comparé les résultats ainsi obtenus avec ceux donnés par les levûres dans des conditions analogues. Nous avons trouvé d'excellents types de moisissures avec un *Dematium* et l'*Oidium lactis*, qui présentaient dans leur développement des formes levûres dont on pouvait comparer la structure à celle du mycélium et à celle des véritables levûres.

a. *Fixation.* — Les fixateurs que nous avons expérimentés sont : la liqueur de Flemmig, le sublimé, l'alcool, l'acide picrique.

La liqueur de Flemmig n'a pu être employée qu'exceptionnel-

Digitized by Google

lement : elle n'est pas favorable aux colorations à l'hématoxyline qui seules permettent de différencier le noyau.

Le sublimé et l'alcool à 95° fournissent de très bons résultats, en ce qui concerne la différenciation de granulations que nous apprendrons à connaître sous le nom de corpuscules métachromatiques et souvent aussi du noyau. Le procédé de choix pour le noyau est l'acide picrique; malheureusement, il entrave la coloration des corpuscules métachromatiques.

Nous avons toujours préféré n'employer la méthode des frottis pour recueillir les cellules, qu'après la fixation : elle présente, en effet, l'inconvénient de déterminer une certaine contraction des cellules et il y a avantage à fixer les cellules dans un verre de montre.

b. *Coloration.* — Les colorants spécifiques de la nucléine (vert de méthyle safranine) ne produisent ordinairement qu'une différenciation insuffisante du noyau. Le vert de méthyle permet cependant d'obtenir dans certains cas d'assez bonnes préparations. Le carmin ne donne pas de résultats. Le rouge de Magenta et la fuchsine peuvent être employés avantageusement pour la coloration du noyau, mais les procédés les plus favorables sont : l'hématoxyline et le bleu de méthylène : le premier pour la différenciation du noyau, le second pour la coloration des corpuscules métachromatiques.

Parmi les couleurs hématoxyliques, l'hémalun donne de belles colorations qui permettent de différencier à la fois le noyau et les corpuscules métachromatiques : le noyau apparaît en bleu mat, le cytoplasme se colore en bleu pâle, les corpuscules métachromatiques sont rouge sombre.

Le procédé de choix pour la différenciation du noyau et de sa structure est l'hématoxyline au fer (procédé de Heidenhain). Le cytoplasme et les corpuscules métachromatiques se décolorent presque complètement par l'alun de fer et le noyau se dessine en noir. Malheureusement, ce procédé a le grand désavantage de produire des effets très variables, sans qu'on en puisse connaître la cause : dans quelques cas, le noyau n'apparaît pas, les corpuscules métachromatiques restent colorés et peuvent être confondus avec le noyau. Cela a exposé des auteurs, qui l'ont employé pour cette étude, à de graves erreurs; nous avons remédié à cet inconvénient en

Digitized by Google

comparant toujours les résultats obtenus à l'aide de ce colorant avec ceux que fournissait l'hémalun dans de pareilles conditions ; l'hémalun différenciant à la fois le noyau et les corpuscules métachromatiques servait avantageusement de criterium.

Comme bleu de méthylène, nous nous sommes servi du bleu polychrome d'Unna ou de solutions à 1 °/₀ de bleu de méthylène. Le noyau apparaît quelquefois, les corpuscules fixent la couleur d'une manière intense et produisent de belles colorations métachromatiques.

Nous avons essayé de pratiquer des coupes à la paraffine dans les levûres et nous y sommes assez facilement parvenu par les procédés habituels : nous n'avons pas obtenu des résultats bien supérieurs à ceux que nous donnaient les levûres colorées sans avoir été préalablement coupées.

Plan du travail. — Nous avons étudié vingt-et-une espèces : des moisissures dont nous avons comparé la structure du mycelium à celle de leurs formes levûres :

Dematium (*species*).
Oidium Lactis (Fresenius).
des levûres : *Saccharomyces cerevisiæ* I (Hansen).
S. Pastorianus I (Hansen).
S. ellipsoideus I (Hansen),
S. membranæfaciens (Hansen).
S. anomalus (Hansen).
S. subcutaneus tumefaciens (Curtis).
S. Ludwigii (Hansen).
S. octosporus (Beyerinck).
S. Pombe (Lindner).
S. Mellacei (Jórgensen).

enfin des levûres encore mal déterminées et des conidies levûres d'Ustilaginées :

Saccharomyces Kéfir (Beyerinck).
S. apiculatus (Reess).
S. mycoderma vini (Winogradsky).
S. mycoderma cerevisiæ (Hansen).
Torula nigra (Marpmann).
Monilia candida (Hansen).

Digitized by Google

Endomyces albicans (*Oidium albicans*) (Vuillemin).
Ustilago Avenæ (Rostrupp).
Ustilago Maydis (Corda).

II. — STRUCTURE DES CELLULES

A. — Moisissures.

1. *Dematium (species).* — Nous étudierons surtout une moisissure que nous avons rencontrée sur du bois humide où elle formait des taches rougeâtres, visqueuses ; nous avons donné antérieurement une description de ses caractères morphologiques (1). Elle offre tous les caractères génériques d'un *Dematium*, mais nous n'avons pas pu la déterminer de façon plus précise.

a) *Corpuscules métachromatiques.* — Au début de son développement, ce Champignon présente un cytoplasme d'apparence homogène, parfois légèrement granuleux. Ce cytoplasme se creuse peu à peu de petites vacuoles contenant une richesse exceptionnelle de granulations. Ces granulations se colorent facilement et d'une manière intense par les différentes matières colorantes. Elles se rencontrent aussi parfois dans le cytoplasme autour des noyaux, mais, presque toujours elles sont renfermées dans les vacuoles. Les plus grosses sont animées de mouvements browniens et sont visibles à l'état frais sous forme de granules réfringents rappelant les globules oléagineux, mais elles n'ont aucune des propriétés des corps gras. L'hématoxyline, l'hémalun (Pl. 9, fig. 1 à 5), le violet de gentiane le colorent en rouge; avec le bleu de méthylène, elles prennent une coloration bleu intense, légèrement violet, quelquefois même rougeâtre (Pl. 9, fig. 20 à 22). Le bleu polychrome les colore en rouge vif, le vert de méthyle leur donne une teinte violacée. Elles présentent donc par leur coloration un des meilleurs exemples de *métachromasie.*

Leur naissance semble souvent être en relation avec celle des vacuoles ; cependant elles paraissent naître plutôt dans le cytoplasme autour des noyaux qui sont souvent entourés des granulations, pour se localiser ensuite dans les vacuoles. Elles apparais-

(1) Guilliermond : *Recherches cytologiques sur les Levûres.*

Digitized by Google

sent dans les filaments les plus jeunes à l'état de très fines granulations souvent réunies en petits groupes à aspect réticulé dans l'intérieur des petits alvéoles hyalins. Ces alvéoles ne sont autre chose que l'origine des vacuoles : ils grossissent tandis que les granulations qu'ils renferment augmentent de nombre, puis ils se fusionnent pour constituer de grosses vacuoles. Chacun des articles des filaments devient alors formé d'un certain nombre de vacuoles se succédant parfois à intervalle régulier, et renfermant un grand nombre de granulations (Pl. 9, fig. 1 et 2). Cette disposition apparaît nettement lorsqu'on fait usage du bleu polychrome qui colore les granulations en rouge vif et le cytoplasme en bleu clair ; la forme de ces granulations devient très variable : les unes, sous forme de petits éléments, sont agglomérées et offrent par leur ensemble un aspect réticulé ressemblant aux réseaux chromatiques des noyaux. Un certain nombre se distinguent par leur forme nettement sphérique et leur taille beaucoup plus considérable, mais se comportent de la même manière que les autres vis-à-vis des matières colorantes et des réactifs chimiques et leur nature est identique. Très souvent, ces dernières sont entourées de granulations très petites qui s'accolent à leur paroi et leur donne parfois un contour irrégulier et l'on se rend facilement compte que leur formation résulte de la fusion des fines granulations (Pl. 9, fig. 2 et 20).

Au fur et à mesure que le Champignon se développe, les vacuoles augmentent de volume, se fusionnent et finissent par remplir la totalité des articles, le cytoplasme étant réduit à l'état d'une mince couche périphérique. Les granulations sont fusionnées et constituent de grosses sphérules qui atteignent des dimensions relativement considérables, pouvant aller jusqu'à 5 μ (Pl. 9, fig. 4).

Ces granulations possèdent des caractères identiques (1) et doivent être assimilés à des corps souvent rencontrés dans les Bactéries et dont on ignore le rôle : Bütschli les a appelés *grains rouges* et Babès les a désignés sous le nom de *corpuscules métachromatiques* que nous conserverons. Ils paraissent très répandus dans les Champignons, comme nous l'a montré un examen rapide d'un

(1) Nous avons essayé de différencier ces corps dans le Bacille de la Diphtérie et de les comparer avec ceux des Champignons ; les caractères qu'ils nous ont montrés ne nous ont laissé aucun doute sur leur identité avec ces derniers.

Digitized by Google

certain nombre de moisissures, mais leur présence n'avait pas jusqu'ici attiré l'attention des auteurs.

Ils sont très nombreux même dans les filaments très jeunes et d'autant plus abondants que le *Dematium* est jeune et placé dans les meilleures conditions ; ils paraissent se comporter comme des matériaux de réserve.

Ils diminuent notablement à la fin du développement et disparaissent en presque totalité lorsqu'on soumet le Champignon à l'inanition.

Dans la dégénérescence, on trouve une transformation presque complète du cytoplasme en globules d'huile; ceux-ci se distinguent des corpuscules métachromatiques par leur inaptitude à fixer les colorants nucléaires et par leurs propriétés chimiques : ils se dissolvent dans l'éther et le chloroforme et brunissent sous l'action de l'acide osmique. Ils possèdent des contours moins réguliers et une moindre réfringence que les corpuscules métachromatiques. Ces derniers diminuent beaucoup de nombre et de taille, mais subsistent cependant partiellement. Une double coloration à l'hémalun et à l'acide osmique, nous a permis de différencier très exactement ces deux sortes de corps ; les corpuscules métachromatiques se colorent en rouge avec l'hémalun, tandis que les globules d'huile brunissent avec l'acide osmique (Pl. 1, fig. 27).

Les corpuscules métachromatiques pénètrent dans les bourgeons comme les noyaux : au moment de la formation des conidies-levûres ou de leur bourgeonnement, on remarque que la vacuole située immédiatement au-dessous de leur point de naissance, envoie un diverticule qui s'introduit dans le jeune bourgeon, entraînant avec lui une portion des corpuscules métachromatiques, puis s'étrangle dans le col qui relie le filament au bourgeon et se sépare de la vacuole mère.

Une étude minutieuse de ces corps et la comparaison de la structure de ce *Dematium* avec celles des levûres, nous ont permis de les assimiler aux *grains de chromatine* décrits par Wager dans ces dernières. Ils se comportent de la même façon vis-à-vis des matières colorantes employées par cet auteur (mélange de vert de méthyle et de fuchsine, de bleu de méthylène et de fuchsine). Nos observations ne permettent pas de les considérer comme faisant partie du noyau et comme étant de nature chromatique.

Digitized by Google

b) *Noyaux.* — Les noyaux se distinguent de ces granulations par leurs formes et leurs dimensions beaucoup plus constantes. Ils sont assez difficiles à différencier. Le procédé de Heidenhain permet de les mettre en évidence avec beaucoup de netteté. L'hémalun différencie très bien les corpuscules métachromatiques qu'il colore en rouge sombre, des noyaux qui apparaissent en bleu mat avec une teinte légèrement plus foncée que le cytoplasme : une longue décoloration seulement permet de distinguer ces derniers (Pl. 9, fig. 1 à 5).

Ces noyaux sont en nombre variable dans chaque article. Ils sont logés dans les espaces cytoplasmiques qui séparent les vacuoles. Rarement ils sont en contact avec les vacuoles ; il n'y a donc aucune raison qui puisse permettre de les rattacher aux vacuoles comme le croyait Wager.

Les bonnes préparations à l'hémalun et surtout celles qui ont été colorées à l'hématoxyline de Heidenhain permettent d'observer leur structure. Ils se présentent sous forme de petites masses variant entre 1 μ et 2,5 μ constituées d'un nucléoplasme incolore, limité par une membrane colorée et d'un corps sphérique très colorable, placé soit au centre, soit à la périphérie. Comme on ne distingue aucun autre élément chromatique dans le nucléoplasme, il est probable que ce corps représente une masse de chromatine condensée sous forme de nucléole : nous le désignerons sous le nom de *chromoblaste* ou *karyosome* (Pl. 1, fig. 1 à 26 ; Pl. 9 fig. 1 à 5).

Nous avons dû constater que cette structure du noyau était commune à beaucoup de moisissures (*Penicillium glaucum*, *Sterigm. nigra*, *Aspergillus variabilis*, *Trichoderma viridis*, *Botrytis cinerea*, qui présentent aussi dans leurs vacuoles une plus ou moins grande quantité de corpuscules métachromatiques.

Ces noyaux correspondent à ceux qu'ont décrit avec moins de détails les quelques observateurs qui ont étudié la structure des moisissures (Dangeard, von Istwanfi, Léger, Guégen).

c) *Division du noyau.* — La division du noyau s'effectue par un mode que certains auteurs considèrent comme intermédiaire entre la mitose et l'amitose (Dangeard, Guégen). Le karyosome se scinde d'abord en deux parties ayant quelquefois la forme de demi-disques, se regardant par leurs faces diamétrales, et entourées d'une même gaine de nucléoplasme incolore ; puis le nucléoplasme se sépare à

Digitized by Google

son tour et donne lieu à la formation de deux noyaux distincts (Pl. 1, fig. 3, 8, 10, 14, 26 ; Pl. 9, fig. 3). La membrane nucléaire est assez difficile à apercevoir dans ces figures : la division se produit dans des endroits des filaments où le cytoplasme, très dense, se colore vivement et empêche souvent de distinguer la membrane du noyau qui apparaît alors constitué d'un karyosome entouré d'une aréole claire de nucléoplasme sans membrane apparente. Néanmoins certaines figures de ces divisions nous ont montré nettement la persistance de la membrane (Pl. 1, fig. 10 et 16). Comme nous avons obtenu de très bonnes préparations de ces stades de divisions et que, dans aucun cas, nous n'avons pu remarquer la plus petite trace de différenciation dans la chromatine, nous pensons que cette division n'est peut-être autre chose qu'*un cas un peu particulier d'amitose.*

d) *Structure des conidies levûres* — Dans les conidies levûres de ce *Dematium*, nous avons trouvé un noyau possédant la même structure. Il n'en existe typiquement qu'un seul par cellule (Pl. 1, fig. 18 à 26 ; Pl. 9, fig. 5) ; accidentellement on en compte de 2 à 3 (Pl. 1, fig. 13 et 15) provenant de ce qu'il peut se former simultanément plusieurs bourgeons dans une même cellule et de ce que la division du noyau peut précéder la formation de ces bourgeons. Ces noyaux sont ordinairement situés au centre, chacun des deux pôles de la cellule, étant occupé par une vacuole chargée de corpuscules métachromatiques (Pl. 9, fig. 5). Ces conidies-levûres de *Dematium*, dont la structure n'avait pas encore été étudiée, nous montrent une organisation identique à celle que nous allons rencontrer chez les levûres.

II. Oidium Lactis. — Nous avons retrouvé une structure analogue dans l'*Oidium Lactis* avec une moins grande abondance de corpuscules métachromatiques. Par contre, l'*O. Lactis* possède une forte proportion glycogène, alors que le *Dematium* n'en renfermait qu'exceptionnellement. Ce glycogène est ordinairement contenu dans les vacuoles avec les corpuscules chromatiqnes. Les noyaux ont une structure analogue, mais beaucoup plus difficile à différencier : ce n'est que très rarement qu'on arrive à distinguer la membrane (Pl. 2, fig. 1 à 19).

Les formes levûres ressemblent par leur mode de multiplication

Digitized by Google

aux Schizosaccharosyces, mais contrairement à ce que nous observerons dans ces levûres, elles sont toujours plurinucléées (Pl. 2, fig. 9 et 12).

B. — Levûres.

Parmi les levûres, celle qui présente le plus de facilité pour l'étude de sa structure, grâce à la grosseur relative de ses cellules, est le *S. cerevisiae.*

I. S. cerevisiae. — a) *Corpuscules métachromatiques.* — Si l'on examine une cellule de cette levûre, au commencement de son développement, on remarque un noyau, unique par cellule, et une ou plusieurs vacuoles, presque toujours accolées au noyau et renfermant des granules visibles à l'état frais sous forme de glomérules réfringents, qui sont identiques aux corpuscules métachromatiques que nous venons d'étudier chez les moisissures (Pl. 9, fig. 5 à 19). On retrouve donc une structure conforme à celle qu'avait observée Wager. Ce dernier décrit, en effet, un corps sphérique (nucléole) et des granulations très colorables : les unes très fines disposées en réticulum et localisées dans la vacuole, laquelle est toujours en relation avec le nucléole, seraient des grains de chromatine, les autres plus grosses et le plus souvent disséminées dans le cytoplasme, devraient être considérées comme étant des grains de protéine et d'huile. Nous avons montré chez les moisissures, que ces granulations étaient très variables de forme et de dimension et qu'elles pouvaient exister parfois dans le cytoplasme, en dehors des vacuoles, mais que toutes se rattachaient par leur propriété vis-à-vis des matières colorantes et des réactifs chimiques et qu'elles devaient toutes être identifiées aux corpuscules métachromatiques. Dans les levûres, on observe aussi de très petites granulations, offrant souvent par leur ensemble l'aspect d'un fin réticulum (Pl. 9, fig. 6, 7, 8, 11, 12, 14) et d'autres plus grosses ayant l'aspect de grosses sphérules et résultant de la fusion des précédentes (Pl. 9, fig. 9, 10, 13, 15, 16, 17, 18, 19). Les premières correspondent aux grains de chromatine de Wager, les secondes sont probablement ce qu'il considère comme des grains de protéine ou d'huile. Un certain nombre de ces granules peuvent également être situés dans le cytoplasme sur le bord des vacuoles et surtout autour du noyau, mais toutes sont identiques au point de vue de leur nature et

Digitized by Google

présentent les caractères des corpuscules métachromatiques. On observe donc chez les levûres une structure analogue à celle que nous avons décrite chez les moisissures avec corpuscules métachromatiques localisés dans les vacuoles et noyau. Il n'est pas possible de considérer ces vacuoles et les granulations qu'elles renferment comme une dépendance des noyaux.

b) *Noyau.* — Le noyau est un corps sphérique de 1,7 à 2,5 μ. de diamètre. Il est le plus souvent accolé à la vacuole ; il peut cependant en être séparé et c'est le cas général dans quelques levûres. Cette liaison fréquente entre le noyau et la vacuole s'explique, étant donnée la forte dimension de la vacuole par rapport à l'étroitesse de la cellule qui fait que ces organes sont presque nécessairement en contact. Il est possible aussi qu'il y ait avantage pour la cellule à ce que le noyau qui paraît jouer un rôle dans la formation des corpuscules métachromatiques se trouvent en contact avec cette vacuole dans laquelle ces derniers se localisent presque toujours.

A l'encontre de Wager, nous avons pu reconnaître dans ce noyau une structure voisine de celle que nous avons décrite pour le *Dematium*. Cette structure présente d'ailleurs une grande difficulté pour être mise en évidence : l'hémalun différencie les corpuscules métachromatiques en rouge sombre et le noyau se présente sous forme d'une masse homogène, d'un bleu mat, légèrement plus sombre que le cytoplasme (Pl. 9, fig. 6 à 19) ; ce n'est que dans les cas les plus favorables et lorsque la décoloration a été très soigneusement exécutée qu'il laisse apercevoir des traces de sa structure. Les meilleurs résultats sont obtenus par l'hématoxyline au fer ; le noyau se montre constitué d'un nucléoplasme incolore, entouré d'une membrane fortement colorée ; dans le nucléoplasme, on distingue plusieurs fins granules chromatiques, dont l'un, plus gros et plus régulier, pourrait être le nucléole. Ces granules sont disposés irrégulièrement dans le nucléoplasme rayonnant parfois autour du nucléole, d'autres fois adhérant à la membrane. Ils sont plus ou moins abondants et, dans quelques cas, le noyau très pauvre en chromatine ne laisse apercevoir que le nucléole (Pl. 2, fig. 20 à 40. Pl. 3, fig. 1 à 20).

Ce noyau correspond donc aux noyaux que nous avons rencontrés

Digitized by Google

dans les moisissures et au nucléole de Wager; il offre beaucoup d'analogies avec les noyaux qui ont été décrits dans les Champignons supérieurs (Basidiomycètes, Ascomycètes). Son existence est donc indéniable et, contrairement à ce que pensait Wager, il possède une structure nettement caractérisée et n'a aucun rapport essentiel avec la vacuole.

c) *Bourgeonnement.* — Le bourgeon naît sous forme d'une petite proéminence qui grossit, se pédicellise et finalement se sépare de la cellule mère. Dès son apparition, la vacuole de cette dernière émet un prolongement qui pénètre dans le bourgeon, entraînant avec lui une certaine quantité des corpuscules métachromatiques ; puis ce prolongement se sépare de la vacuole mère par étranglement et devient la vacuole de la nouvelle cellule (Pl. 9, fig. 6,7,8,9,10,12,15).

Ce n'est généralement que lorsque la vacuole s'est introduite dans le bourgeon et souvent même lorsque son partage est accompli, que le noyau commence à se diviser. Il n'existe donc aucune liaison entre ces deux divisions, contrairement à ce qu'avait décrit Wager. Cependant, il arrive parfois que la division de la vacuole et celle du noyau soient simultanées et que le noyau pénètre dans le jeune bourgeon en même temps que la vacuole, mais cela n'a aucun caractère constant.

Cette division du noyau s'effectue de la manière suivante : le noyau conserve ordinairement la situation qu'il occupe dans la cellule, même lorsqu'il se trouve à l'extrémité opposée au bourgeon. Il produit un diverticule qui gagne l'orifice du bourgeon et y pénètre (Pl. 2, fig. 22 et 40; Pl. 3, fig. 5 et 20; Pl. 9, fig. 8 et 9). Ce divercule une fois introduit dans le bourgeon se renfle à son extrémité ; le noyau prend ainsi l'aspect d'un haltère dont le manche s'effile de plus en plus et finit par se rompre. Les deux portions du noyau ainsi détachées s'arrondissent et constituent deux noyaux dont l'un se trouve placé dans le bourgeon.

Souvent aussi, le noyau s'allonge à peine et se divise sur place par un léger étranglement et par la formation d'une cloison médiane sans s'étirer autrement ; l'un des noyaux ainsi formé s'introduit dans la cellule fille (Pl. 2, fig. 37 ; Pl. 3, fig. 4, 9, 13 et 14 ; Pl. 9, fig. 12). Dans la plupart des cas, le noyau, en se divisant, prend uniformément la couleur et paraît homogène ; quelquefois cependant, nous avons obtenu des figures où le noyau laissait distinguer

Digitized by Google

les détails de sa structure (Pl. 2, fig. 22, 37, 40 ; Pl. 3, fig. 4, 13, 14). Ces deux modes de divisions se rattachent sans aucun doute aux *amitoses typiques*.

d) *Développement.* — Nous avons suivi très attentivement le développement histologique du *S. cerevisiæ*, cultivé dans le liquide Mayer.

Dans les premières heures de la fermentation, les cellules renferment un cytoplasme très dense, d'aspect homogène, creusé d'un certain nombre de très petites vacuoles contenant quelques corpuscules métachromatiques. Ces vacuoles se fusionnent d'ordinaire en une seule plus grosse : en même temps, les corpuscules métachromatiques augmentent de nombre, offrant parfois, par leur groupement, l'aspect d'un réseau de chromatine (Pl. 9, fig. 6, 7, 8, 11, 14) ; dans la suite, ils grossissent et se fusionnent les uns avec les autres, se transformant en sphérules d'assez fortes dimensions (Pl. 9, fig. 13 et 15). Très souvent, au cours du développement, on en voit naître dans le cytoplasme, tout autour du noyau, qu'ils entourent, qu'ils relient à la vacuole et dont ils peuvent masquer le contour (Pl. 9, fig. 6, 11, 14 et 15). Il devient alors très difficile de différencier le noyau de ces corpuscules : l'hématoxyline au fer le colore avec ces derniers, ce qui lui donne un contour irrégulier et a fait admettre de certains observateurs (Moeller, Bouin), qu'il était capable de mouvements amiboïdes et qu'il présentait à certains stades une forme étoilée. Seules les colorations à l'hémalun, en différenciant le noyau en bleu et les corpuscules métachromatiques en rouge sombre, permettent de se rendre compte de cette disposition qui pourrait faire penser que le noyau joue un rôle dans la formation des corpuscules métachromatiques.

Environ vingt-quatre heures après le début de la fermentation, on remarque que le glycogène qui, jusqu'à ce moment, était peu abondant et imprégnait le cytoplasme, paraît se diffuser dans de petites vacuoles distinctes de la vacuole à corpuscules métachromatiques : peu à peu ces vacuoles se fusionnent en une seule, qui grossit, envahit peu à peu la cellule, repoussant le cytoplasme et la vacuole à corpuscules métachromatiques à la périphérie de la cellule (Pl. 9, fig. 16 à 19). Cette dernière finit par disparaître et finalement les cellules se transforment en de véritables glandes à

Digitized by Google

glycogène, constituées d'une énorme vacuole remplie de glycogène, occupant toute la cellule. Le cytoplasme est déjeté sur un côté de la cellule qui, à ce stade, paraît presque toujours d'un aspect homogène et les corpuscules métachromatiques, ceux-ci ayant notablement diminué (Pl. 9. fig. 18). Cette vacuole glycogénique présente ordinairement un aspect beaucoup moins hyalin que la précédente : elle prend souvent une teinte diffuse avec les colorants et montre dans son intérieur une certaine quantité de petites granulations qui se colorent faiblement. Il est impossible pour le moment de nous rendre compte de la signification de ces granulations ; il se pourrait qu'elles résultent d'une coloration d'éléments non dissous de glycogène (Pl. 2, fig. 16 à 20).

Cette structure se conserve pendant toute la période active de la fermentation ; dès que celle-ci se ralentit, le glycogène est peu à peu absorbé : la vacuole qui le contient diminue progressivement de volume, tandis que la vacuole à corpuscules métachromatiques se reforme ; finalement les cellules reprennent leur état primitif et sont formées d'une grosse vacuole renfermant quelques corpuscules métachromatiques, la vacuole glycogénique ayant disparu (Pl. 9, figure 19).

Il paraît donc exister deux sortes de vacuoles, les unes qui contiennent du glycogène et les autres qui renferment des corpuscules métachromatiques. Cette particularité déjà observée par Wager, qui distinguait des *vacuoles nucléaires* et des *vacuoles à glycogène*, se remarque dans un grand nombre de levûres.

Dans la dégénérescence, on observe une transformation du cytoplasme en globules d'huile : tandis que les corpuscules métachromatiques disparaissent presque complètement. Il importe encore ici de distinguer ces deux catégories de granules qui ont été souvent confondues : certains auteurs comme Casagrandi ont, en effet, considéré tous les corpuscules métachromatiques comme des globules de graisse.

e) *Résumé.* — Il résulte donc de ces observations qu'il existe dans chaque cellule, *un noyau* bien caractérisé et des vacuoles souvent en contact avec ce noyau, mais qui en sont nettement distinctes. Ces dernières renferment des granulations qui n'ont aucuns caractères nucléaires et qui se rattachent aux *corpuscules métachromatiques* des Bactéries.

Digitized by Google

f) *Comparaison de nos résultats avec ceux de nos devanciers.* — La structure que nous décrivons correspond, en somme, malgré les contradictions apparentes de leurs résultats, aux descriptions des différents auteurs qui nous ont précédé dans cette étude.

Les uns admettent, en effet, l'existence d'un noyau se présentant sous forme d'un petit corps sphérique, qui n'est autre chose que celui que nous avons observé (Schmitz, Hansen, Buscalioni, Dangeard, Bouin, etc...). La plupart d'entre eux l'ont décrit sous la forme d'une masse homogène ; la différenciation de sa structure présente, en effet, de sérieuses difficultés de technique.

Quelques-uns ont obtenu un noyau énorme, occupant une grande partie du volume de la cellule, avec des granules chromatiques disséminés dans un nucléoplasme hyalin (Eisenschitz, Maffucci et Sirleo, Janssens et Leblanc) (1) ; ceux-ci étaient en présence de la vacuole, dont ils ont coloré les corpuscules métachromatiques, et qu'ils ont pris à tort pour le noyau : ils n'ont pas remarqué le véritable noyau qui se colore beaucoup plus difficilement.

Les autres enfin ont considéré ces granulations, très abondantes dans la cellule, comme des grains de chromatine disséminés dans le cytoplasme (Curtis), ou même ont décrit des organes particuliers (Hieronymus) (2) qui sont dus à certaines apparences de ces granules, lorsqu'ils sont très nombreux.

Seul Wager a eu le mérite de différencier à la fois le véritable noyau et les granules renfermés dans la vacuole, mais il n'a pas remarqué la métachromasie caractéristique de ces granules et n'a

(1) Janssens et Leblanc se sont servis uniquement pour leurs colorations de l'hématoxyline de Heidenhain. Ce procédé, qui donne souvent d'excellents résultats, a cependant l'inconvénient d'être très irrégulier ; il expose à confondre les corpuscules métachromatiques avec le noyau, s'il n'est pas soumis au contrôle d'un autre colorant.

(2) Bouin a cherché à expliquer les figures de Hieronymus : en plaçant le *S. cerevisiæ* dans une solution de 20 % de sucre, milieu qu'avait employé ce dernier, il arriva à produire des cellules qui se multiplient à peine et se gonflent par suite de la trop forte concentration du milieu et qui, selon lui, seraient plurinucléées. Les noyaux, se divisant et se succédant en forme de chapelets, donneraient par leur ensemble des figures spiralées. Nous avons répété ces expériences, mais nous n'avons jamais observé ces chapelets de noyau qui ne sont probablement autre chose que des corpuscules métachromatiques très abondants. Les préparations de Bouin étaient colorées à l'hématoxyline au fer.

Digitized by Google

pas eu l'idée de les comparer avec les corpuscules métachromatiques des Bactéries (1).

II. Autres levures. — Les autres levûres présentent des structures très voisines de celles que nous venons d'observer dans le *S. cerevisæ* : partout, on remarque un noyau bien caractérisé, unique dans chaque cellule, et des corpuscules métachromatiques localisés dans les vacuoles. Il n'y a que les différences de détails.

Le noyau offre une constitution analogue à celle que nous avons décrite pour le *S. cerevisiae* et se divise de la même manière dans un certain nombre de levûres *S. Pastorianus* (Pl. 3, fig. 9 à 14). *S. Ellipsoideus* (Pl. 3, fig. 42 à 48; Pl. 4, fig. 1 à 3). Dans les autres levûres, il montre une structure voisine de celle des moisissures avec nucléoplasme, karyosome et membrane plus ou moins apparente suivant les cas : *S. Membranæfaciens* (Pl. 4, fig. 39 à 41). *S. anomalus* (Pl. 4, fig. 29 à 37), *S. Ludwigii* (Pl. 4. fig. 44 à 47; Pl. 9, fig. 26 et 27), *S. Kefir*, *S. mycoderma Vini* (Pl. 6, fig. 45 à 52), *S. Mycoderma cerevisiæ* (Pl. 7, fig. 35 à 47), Schizosaccharomycètes (Pl. 7, fig. 1 à 4: Pl. 7, fig. 1 à 4, 28 à 30); la division s'effectue par le procédé que nous avons étudié dans les moisissures (scission transversale du karyosome). Dans le *S. Luidwigii* et le *S. Kéfir*, elle peut s'accomplir aussi par allongement et constriction; les deux modes se rencontrent indifférement.

Dans quelques levûres très petites, le noyau ne montre aucune structure, probablement à cause de sa faible dimension, et paraît homogène *(S. subcutaneus tumefaciens)* (Pl. 4, fig. 26 à 28) (*S. apiculatus*) (Pl. 7, fig. 53 à 61).

Les corpuscules métachromatiques sont généralement très abondants dans toutes les levûres, sauf de très rares exceptions. (Le *Sch. octosporus* en contient très peu). On remarque souvent des vacuoles à glycogène distinctes des vacuoles à corpuscules métachromatiques. Dans un certain nombre de levûres, on observe un développement de ces vacuoles analogue à celui que nous avons suivi dans le *S. cerevisiæ*. Certaines levûres de formes allongées se montrent constituées d'une ou plusieurs vacuoles à corpuscules métachro-

(1) Wager employait surtout pour ses colorations les mélanges de vert de méthyle et de fuchsine avec lesquels la métachromasie de ces corpuscules est toujours très peu accentuée et peut passer inaperçue.

Digitized by Google

matiques vers le centre de la cellule et de deux vacuoles polaires remplies de glycogène qui paraissent subsister pendant tout le développement. (*S. Ludwigii*, *S. Pastorianus*, Pl. 9, fig. 28). D'autres renferment plusieurs vacuoles à corpuscules métachromatiques et plusieurs vacuoles glycogéniques se succédant dans la longueur de la cellule. Nous avons observé dans des levûres de Champignons mal déterminés (*M. candida*, Pl. 8, fig. 27 à 36; (*O. albicans*, Pl. 8, fig. 1 à 11; (*T. nigra*, Pl. 8, fig. 12 à 26), et dans les conidies levûres d'Ustilaginées (Pl. 7, fig. 32 à 57) une structure absolument analogue avec un seul noyau par cellule. Dans certains cas, les conidies levûres d'Ustilaginées présentaient un grand nombre de petites vacuoles très rapprochées les unes des autres, les unes à glycogène, les autres à corpuscules métachromatiques et offraient un aspect alvéolaire voisin des structures décrites par Bütschli dans les Bactéries (Pl. 8, fig. 37 à 47). Les formes levûres montrent donc aussi bien histologiquement que morphologiquement une remarquable conformité avec les Saccharomycètes.

(*A suivre*).

Digitized by Google

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DES PROTOCOCCACÉES

CHLORELLA VULGARIS Beyerinck

par M. Jean GRINTZESCO (*Suite*).

CHAPITRE V

Cultures sur gélatine.

§ 1. — Cultures sur gélatine nutritive.

Beyerinck a cultivé *Chlorella vulgaris* sur de la gélatine nutritive; nous répétons ses expériences pour rechercher en particulier, à l'aide d'une culture pure, si cette algue liquéfie la gélatine.

Nous dissolvons 150 grammes de gélatine dans la solution nutritive qui nous a servi à préparer l'agar, à savoir : 1000 grammes d'eau distillée; azotate de calcium 1,65; chlorure de potassium 0,50; sulfate de magnésie 0,50; phosphate de potasse 0,50; sesquichlorure de fer, des traces. Après filtration nous répartissons ce milieu nutritif dans 12 flacons Erlenmeyer et les algues y sont ensemencées: dans 4 flacons par dilution, dans 4 par piqûres et dans 4 par stries. Des cultures sur agar nutritif mises en marche le même jour, servent de point de comparaison.

Résultats : 1° *Chlorella* se développe *moins vite* sur la gélatine que sur l'agar ; les colonies n'y deviennent visibles que 15 ou 20 jours après l'ensemencement.

2° Les colonies sont parfaitement rondes et dès le début d'un

Digitized by Google

vert foncé, mais elles sont 4 à 5 fois *plus petites* que celles obtenues, dans le même laps de temps sur l'agar nutritif.

3° *Près de la surface de la gélatine les colonies sont plus grosses* que dans la profondeur ; elles diminuent progressivement de grandeur à mesure que l'enfoncement est plus grand. Toutefois le microscope révèle des cellules de même forme que celle des colonies développées dans l'agar.

4° Chlorella vulgaris *ne liquéfie pas la gélatine*, ce qui confirme les observations de Beyerinck. Il ne se produit guère qu'une dépression dans l'endroit occupé par la strie ou par la piqûre, mais la strie comme la piqûre restent sèches. Ce caractère différencie physiologiquement *Chlorella vulgaris* de *Scenedesmus acutus* qui se comporte tout autrement en présence des milieux gélatinés.

§ 2. — Cultures sur gélatine nutritive additionnée de glucose.

Nous établissons deux séries de cultures :

1re série	*2e série*
12 tubes.	12 tubes.
Gélatine nutritive.	Gélatine nutritive.
Glucose 1 %.	—

Les ensemencements sont faits par dilution, stries ou piqûres. Nous observons que :

1° Des colonies sphériques se montrent déjà dans la gélatine glucosée au bout de 10 jours environ ; *la glucose active donc le développement.*

2° Au bout de 30 jours, les colonies sont *2 à 3 fois plus grandes* dans les tubes de la première série.

3° *La glucose ne modifie pas la couleur des colonies ;* elles se maintiennent en bon état, d'un vert foncé pendant longtemps et au bout d'un an elles peuvent encore fournir de nouvelles cultures. Cependant une colonie prélevée d'une ancienne culture et ensemencée de nouveau sur agar ou sur gélatine met beaucoup plus de temps pour se développer qu'une autre provenant de cultures récentes. Probablement que dans les cultures anciennes l'algue se trouve à l'état de vie latente.

4° L'examen microscopique permet d'observer les mêmes formes

Digitized by Google

cellulaires que dans les cultures sur agar, *certaines cellules sont cependant plus grandes.*

5° *La liquéfaction de la gélatine ne se produit pas,* il n'y a qu'une dépression sèche à l'endroit de la strie ou de la piqûre.

Les résultats précédents sont observables quel que soit le mode d'ensemencement : dilution, piqûres ou stries.

§ 3. — Culture sur gélatine nutritive peptonisée.

Pour augmenter le pouvoir nutritif de la gélatine, nous lui ajoutons 1 °/₀ de peptone en nous demandant aussi si *Chlorella vulgaris* se comportera comme *Scenedesmus acutus* qui ne supporte pas une telle proportion de peptone.

Nous établissons deux séries de cultures :

1re série.	*2e série.*
9 tubes.	9 tubes.
Gélatine nutritive.	Gélatine nutritive.
Peptone 1 °/₀.	—

1° Dans ces conditions l'*algue se développe dans tous les tubes* et nous n'enregistrons aucune différence appréciable ni dans la forme des cellules, ni dans la grandeur des colonies.

2° *Le développement dans le milieu peptonisé n'est pas plus rapide* que dans le milieu dépourvu de peptone.

La même expérience modifiée par l'adjonction de 1 °/₀ de glucose donne des résultats identiques, mais avec un développement plus rapide des colonies, comme c'est du reste toujours le cas dans les milieux glucosés.

§ 4. — Cultures sur gélatine nutritive dont l'azote est donné sous forme de peptone seulement.

Nous nous proposons de savoir si le peptone constitue à lui seul une source d'azote suffisante. L'expérience comporte 20 tubes distribués en deux séries :

1re série.	*2e série.*
10 tubes.	10 tubes.
Milieu nutritif gélatiné mais sans azotate de calcium.	Milieu nutritif gélatiné contenant de l'azotate de calcium.
Chlorure de calcium.	—
1 °/₀ de peptone.	—
1 °/₀ de glucose.	1 °/₀ de glucose.

Digitized by Google

Les résultats sont identiques à ceux enregistrés pour *Scenedesmus acutus. L'algue se développe au début avec la même vigueur dans les deux séries;* ce n'est qu'au bout de quelque temps que le développement dans les tubes sans peptone dépasse celui des tubes de la première série.

§ 5. — Cultures sur gélatine seule.

Enfin, la gélatine sans adjonction d'aucune substance nutritive peut-elle permettre le développement de *Chlorella vulgaris*. Expérience avec deux séries de tubes :

1re série.	*2e série.*
10 tubes.	10 tubes.
Milieu gélatiné préparé avec de l'eau distillée.	Milieu gélatiné nutritif.

Résultats : 1° Ce n'est qu'au bout de 20 à 25 jours que les colonies sur gélatine seule sont visibles à l'œil nu; *leur développement est donc tardif* comparativement à celui des colonies développées dans la gélatine nutritive ;

2° L'algue se trouve partout au début en très bon état mais nous notons que *le développement sur gélatine seule ne se manifeste que pendant peu de temps*; les colonies finissent par ne plus s'accroître et l'algue passe même à l'état de vie latente.

Conclusions

La plupart de nos cultures sur agar et sur gélatine ayant été répétées deux fois, à Genève et à Bucarest, nous pensons pouvoir affirmer la certitude des résultats suivants :

1° Les milieux agarisés ou gélatinés, préparés avec des substances inorganiques, constituent de bons milieux de culture pour *Chlorella vulgaris*;

2° La glucose active toujours le développement de cette algue et son action n'est pas nuisible, même si les cultures se prolongent pendant longtemps;

3° Dans les milieux sans glucose, *Chlorella vulgaris* montre une tendance à se développer à la surface du substratum; dans les milieux glucosés le développement se fait également dans toutes les parties du substratum;

Digitized by Google

4° Le peptone n'est pas une meilleure source d'azote que les nitrates;

5° *Chlorella vulgaris* ne liquéfie pas les milieux gélatinés.

CHAPITRE VI

Cultures sur plaques poreuses.

Nous utilisons pour ce genre de cultures des plaques en terre de pipe et nous employons les deux dispositifs que nous avons représentés dans la planche 4 de notre étude sur *Scenedesmus acutus* Meyen (1). Ce sont :

1° Des plaques poreuses carrées enfermées dans des boîtes de Pétri contenant la solution nutritive diluée ;

2° Des plaques poreuses rectangulaires introduites dans des éprouvettes dont le fond contient la solution nutritive.

Les deux dispositifs donnent de bons résultats; le premier a été employé précédemment par Chodat et Goldflus (2) pour la culture d'une Nostocacée; la seconde par Chodat et nous (3), pour la culture du *Scenedesmus acutus*.

Nous ferons seulement observer que les boîtes de Pétri favorisent l'évaporation (on peut la diminuer par l'emploi de petites cloches) et qu'elles permettent difficilement de maintenir pendant longtemps la pureté des cultures. Les plaques rectangulaires glissées dans des tubes sont beaucoup plus pratiques.

Nous avons ensemencé *Chlorella vulgaris* sur les plaques poreuses par stries et par dilution.

Partout, elle se développe vigoureusement; si vigoureusement dans les cultures par stries que celles-ci deviennent de plus en plus larges, se rejoignent et constituent finalement une seule tache verte d'une certaine épaisseur.

Comparativement aux cultures sur agar, *les colonies sur plaques poreuses se développent plus lentement*, mais s'accroissent indéfini-

(1) Grintzesco, J.: *Recherches expérimentales sur la morphologie et la physiologie du* Scenedesmus acutus *Meyen*. Bull. Herb. Boissier, 1902.

(2) Chodat, R et Goldflus, M. : *Note sur la culture des Cyanophycées*. Bull. Herb. Boissier, 1897.

(3) Chodat, R. et Grintzesco, J. : *Sur les méthodes de culture pure des algues vertes*. Comptes rendus du Congrès international de botanique. Paris, 1900.

Digitized by Google

ment et se maintiennent en bon état. Au microscope l'algue des plaques poreuses présente quelques modifications : *certaines cellules sont très grosses* et atteignent dix microns. La *membrane cellulaire est plus épaisse*, ce qui concorde avec les résultats obtenus pour *Scenedesmus acutus* et ce qui est dû probablement à la grande quantité de radiations lumineuses que l'algue reçoit. *Le chromatophore d'un vert foncé présente des perforations* nombreuses, ce qui lui donne la physionomie d'un réseau (fig. 17).

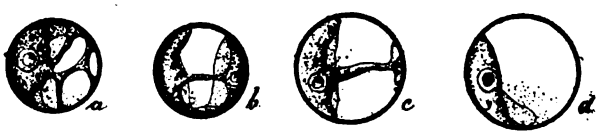


Fig. 17. — *Chlorella vulgaris* Beyer. — Culture sur plaques poreuses.

Parfois il se ramasse contre une portion de la paroi interne de la cellule.

Quant aux colonies elles présentent tous les stades de développement ; les cellules se divisent par 2, par 4 ou par 8 et présentent des dimensions très différentes (de 3 microns à 10 microns). Celles qui atteignent 6 microns sont les plus fréquentes.

CHAPITRE VII

Cultures dans des milieux liquides.

§ 1. — Cultures dans l'eau ordinaire stérilisée.

Des expériences faites dans un tel milieu de culture ont leur utilité puisque l'eau ordinaire stérilisée est pour les algues le milieu artificiel qui se rapproche le plus du milieu naturel. Et quand les formes obtenues sur agar et sur gélatine diffèrent des formes habituelles, au point qu'on est embarrassé pour se prononcer sur l'identité d'une espèce, la culture dans les milieux liquides permet de ramener l'espèce à sa forme et à sa grandeur primitives.

Chlorella vulgaris Beyer. se prête très bien à des cultures en milieux liquides. Nous la cultivons dans des flacons Erlenmeyer

Digitized by Google

que nous stérilisons deux fois avant d'introduire l'algue, prélevée de colonies obtenues sur agar.

Dans l'eau ordinaire stérilisée *le développement est assez rapide* et au bout d'un mois le fond des flacons est recouvert d'une couche verte et, si on les agite, l'eau se colore en vert clair.

§ 2. — Cultures dans l'eau distillée additionnée de sels nutritifs.

Nous ajoutons à l'eau distillée des proportions diverses de la solution nutritive utilisée précédemment et nous y ensemençons des *Chlorellas. Le développement de l'algue est, dans une certaine limite, en rapport avec la quantité de sels contenus dans le substratum*, mais *l'on obtient encore des cultures avec des traces de solution nutritive.*

Si l'on additionne du glucose le développement est activé au point qu'au bout d'un mois, en agitant le liquide de culture, celui-ci prend une coloration vert foncé.

CHAPITRE VIII

Influence de la lumière et de l'obscurité.

§ 1. — Cultures à la lumière totale.

Toutes les cultures dont nous avons parlé précédemment ayant été faites en lumière totale, nous n'insisterons pas beaucoup sur l'influence de ce facteur. Nous indiquerons seulement que :

1° *La trop vive lumière*, comme par exemple celle des rayons solaires directs, *est défavorable*, et peut entraîner la mort. *Chlorella vulgaris* la supporte mieux cependant que *Scenedesmus acutus*.

En pleine lumière les colonies de *Chlorella* cessent de se développer puis se décolorent progressivement au point de devenir complètement blanches lorsque les cellules meurent.

§ 2. — Cultures à la lumière électrique.

Nous avons utilisé comme source de lumière artificielle une lampe à incandescence qui fonctionnait sans interruption dans un cabinet noir. Les cultures étaient réparties en deux séries :

Digitized by Google

Première série : douze tubes à réaction renfermant de l'agar nutritif ont été ensemencés par dilution, piqûres ou stries et placés sur un plateau, au dessous de la lampe électrique, à une distance de 25 centimètres. Un thermomètre placé dans un tube à culture marquait 20° C. ; cette température s'est maintenue pendant toute la durée des observations.

Deuxième série : douze tubes à réaction, semblables aux précédents, sont placés en même temps qu'eux à la lumière intermittente du jour et dans un thermostat, de façon à réaliser les mêmes conditions de température.

Résultats : 1° A la lumière électrique, malgré la richesse de cette lumière en rayons ultra-violets, l'*algue se développe bien*, sans modifier ni sa forme, ni son contenu : les colonies sont formées de cellules libres et arrondies.

2° *Le développement est très rapide* : les colonies sont déjà visibles à partir du quatrième jour tandis qu'on n'aperçoit celles placées à la lumière solaire qu'au bout de huit jours.

L'expérience ayant été répétée après avoir ajouté à l'agar 1 °/₀ de glucose, ce sucre a influé comme précédemment : l'algue s'est développée d'une façon encore plus rapide.

§ 3. — Cultures à l'obscurité.

Nous avons disposé des cultures sur agar nutritif additionné de 2 °/₀ de glucose dans des boîtes noires en carton, placées dans la chambre noire de photographie de l'Institut de botanique de Genève. A ces cultures, formant une première série, nous en avons comparé d'autres laissées à la lumière totale. L'ensemencement était pratiqué par dilutions, stries et piqûres. Voici nos résultats au bout de 40 jours d'expérience.

1° *Chlorella vulgaris* se développe à l'obscurité et donne de très *belles cultures vertes*. Ce résultat est conforme aux observations d'Artari (1) pour les gonidies de *Xantoria parietina* et de *Gasparinia murorum* et à celles de Radais (2) pour *Chlorella vulgaris*. Il paraît donc suffisant pour obtenir des cultures vertes développées à

(1) Artari : *Ueber die Entwickelung der grünen Algen*, etc. Bull. Soc. Impér. des naturalistes de Moscou. N° 1, 1899.

(2) Radais : *Sur la culture d'une algue verte*. Comptes rendus Acad. des Sciences de Paris, 1900.

Digitized by Google

l'obscurité de donner à l'algue un substratum assez nutritif. Nous avons indiqué précédemment que les colonies de *Chlorella* développées à la lumière sont parfois plus grandes à la surface du substratum que dans sa profondeur. Puisque l'algue se développe à l'obscurité ce n'est donc pas la lumière qui est la cause de cette inégalité de développement ; cette cause doit être chimique.

Il est aussi intéressant de constater que dans les cultures à l'obscurité et ensemencées par stries *le développement est plus vigoureux* que dans les flacons correspondants placés en lumière totale.

CHAPITRE IX

Influence de la température.

§ 1. Cultures au thermostat.

Nous avons placé des cultures à une température constante pour déterminer quelle chaleur maximale permet encore le développement de *Chlorella vulgaris*. Les milieux de culture contenaient du glucose pour activer le développement.

Première expérience : Douze tubes renfermant de l'agar nutritif glucosé à 1 °/₀ sont ensemencés et placés dans une étuve *réglée à 20 °/₀*. L'ensemencement est fait par dilution, stries et piqûres. *Les colonies sont visibles dès le 5e jour* après l'ensemencement. Au bout de 28 jours nous arrêtons l'expérience et nous constatons partout un très beau développement.

Deuxième expérience : Douze tubes renfermant de l'agar nutritif glucosé à 1 °/₀ sont placés dans une étuve *réglée à 30 degrés*, tandis qu'une seconde série de tubes témoins est laissée à la température habituelle de l'Institut. Or, à 30 degrés *le développement est faible* ; les colonies ne sont plus visibles qu'au bout de 8 à 10 jours et sur les douze tubes mis en culture, quatre ne montrent aucun développement. Au microscope les cellules montrent un *chromatophore désorganisé* et elles sont tantôt remplies de granulations, tantôt vacuolisées. Leurs dimensions varient de trois à dix microns. Si la température de 30 degrés est maintenue le développement s'arrête, tandis que dans les tubes témoins le développement est normal.

Troisième expérience : Douze tubes renfermant de l'agar glucosé

Digitized by Google

à 1 °/₀ sont placés dans une étuve réglée à *35 degrés*. Sur les douze tubes il n'y en a qu'un seul, ensemencé par dilution, qui montre un faible développement ; les autres tubes sont stériles. *La limite supérieure permettant le développement de* Chlorella vulgaris *doit donc être aux environs de 35 degrés.*

§ 2. — Cultures à de basses températures.

Nous avons porté des cultures dans l'appareil frigorifique des abattoirs de Genève que M. Dentand, le Directeur, a bien voulu mettre à notre disposition. Les tubes à culture renfermaient de l'agar nutritif additionné de 1 °/₀ de glucose ; les ensemencements avaient été pratiqués par stries et par dilution. Une série de tubes témoins était gardée à l'Institut de botanique comme termes de comparaison, les autres étaient placés dans l'appareil frigorifique des abattoirs, devant une fenêtre par laquelle ils recevaient une lumière diffuse. Un thermomètre à maxima et à minima enregistrait la température qui, au début de l'expérience, était de 0,5 de degré. Au bout de 15 jours les cultures ne s'étaient pas développées dans l'appareil frigorifique, tandis que celles gardées à l'Institut montraient un développement normal. Au bout de 32 jours nous avons arrêté l'expérience. Le thermomètre à maxima enregistrait alors 1,8°; le thermomètre à minima 0°. Sur les douze tubes mis en culture dans les chambres frigorifiques, trois montraient des colonies difficilement visibles à l'œil nu; les neuf autres tubes contenaient des colonies visibles avec une forte loupe.

La température minima permettant encore le développement de Chlorella vulgaris se trouve donc au-dessous de 1,8°. Cette basse température produit une diminution et un retard de développement mais non un arrêt complet.

CHAPITRE X

Cultures dans le vide.

Pour ce genre de recherches nous nous sommes servis d'abord d'une grande cloche pneumatique construite pour la culture des bactéries anaérobies. Le vide y était fait à l'aide d'une pompe aspirante fonctionnant sans interruption.

Première expérience : Une série de dix flacons Erlenmeyer ren-

Digitized by Google

fermant de l'agar nutritif additionné de 2 °/o de glucose reçoit des ensemencements et est placée à la lumière diffuse dans la cloche pneumatique. Une autre série de flacons témoins est placée dans les conditions habituelles de l'Institut.

Chlorella vulgaris *se développe dans le vide, mais le développement des colonies est retardé*; ces colonies ne sont visibles qu'à partir du 20e jour. Examinée au microscope l'algue ne présente rien de particulier.

Deuxième expérience : Les milieux de culture se desséchant très rapidement dans une grande cloche pneumatique, nous la remplaçons par de petites cloches dont la capacité ne dépasse pas un litre. Elles sont suffisamment étanches, très rapidement vides d'air et les cultures peuvent y être poursuivies pendant 30 à 40 jours. Pour plus de certitude nous avons pourvu chaque petite cloche d'un réservoir d'acide pyrogallique en poudre et d'un manomètre, puis, par le tube d'aspiration, nous avons introduit une quantité déterminée de soude caustique en dissolution afin que l'acide pyrogallique, imbibé de la dissolution de soude caustique, se colorât en brun en présence de l'oxygène s'il en était resté dans la cloche. Or, d'une part, l'acide pyrogallique restant presque incolore et, d'autre part, le manomètre indiquent que l'air a été entièrement aspiré.

Les résultats que nous avons obtenus avec les cultures sous la grande cloche pneumatique se répètent avec les petites cloches. *Chlorella vulgaris* vit donc comme une plante *anaérobie*, à condition qu'on lui donne un substratum riche en substances nutritives. Nous avions enregistré un résultat semblable pour *Scenedesmus acutus* Meyen.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les recherches comme celles que nous venons d'exposer ont surtout de l'intérêt quand elles sont comparatives. C'est pourquoi, dans ces conclusions générales, au lieu de nous borner à n'insister que sur les faits relatifs aux Chlorellas, nous renvoyons d'abord nos lecteurs à notre précédent travail sur le *Scenedesmus acutus*

Digitized by Google

Meyen (1) et nous dressons un tableau comparatif pour *Scenedesmus* et *Chlorella*. Puis, de ce tableau, nous tirons quelques données générales, en reconnaissant bien cependant qu'il est sans doute téméraire de prétendre connaître des généralités en n'ayant étudié que deux espèces. C'est sur un grand nombre d'espèces d'algues qu'il aurait fallu expérimenter : nous ouvrons du moins la voie dans ce genre de recherches.

Tableau comparatif de la physiologie

de *Scenedesmus acutus* Meyen. et de *Chlorella vulgaris* Beyer.

CULTURES SUR :	SCENEDESMUS	CHLORELLA
1. Agar additionné de sels minéraux.	Développement, au bout de 8 à 10 jours, de cellules libres de formes diverses. Membranes épaissies. Division active pendant 20 jours.	Développement au bout de 6 à 8 jours. Cellules libres, arrondies, réniformes ou polyédriques. *Membranes minces.* Division active au début des cultures.
2. Agar nutritif additionné de glucose.	Développement activé. Colonies 3 fois plus grosses. Anaérobisme marqué. La glucose est nuisible si elle agit trop longtemps.	Développement activé. Colonies 3 fois plus grosses. *Même facilité de développement pour toutes les parties du substratum.* *La glucose n'est jamais nuisible.*
3. Gélatine nutritive.	Développement au bout de 10 à 15 jours. Colonies sphériques. *Scenedesmus* liquéfie la gélatine.	Développement au bout de 15 à 20 jours. Colonies sphériques, *4 à 5 fois plus petites que sur l'agar.* *Colonies plus grosses à la surface du substratum.* *Chlorella ne liquéfie pas la gélatine.*

(1) Grintzesco, J. : *Morphologie et physiologie du* Scenedesmus acutus (Bullet. Herbier Boissier, 1902).

Digitized by Google

Cultures sur :	Scenedesmus	Chlorella
4. Gélatine nutritive et glucose.	Développement au bout de 5 à 6 jours. Cellules grandes et isolées Liquéfaction plus active de la gélatine. La glucose est nuisible si elle agit trop longtemps.	Développement rapide. Colonies 2 à 3 fois plus grosses que quand il n'y a pas de glucose. Cellules plus grandes. *Pas de liquéfaction de la gélatine.* *La glucose n'est jamais nuisible.*
5 Gélatine nutritive et peptone	1 °/. de peptone est nuisible, il arrête complètement le développement. La plante en supporte 0,5 °/. mais le peptone ne favorise pas sa culture.	*La plante supporte 1 °/. de peptone* mais cette substance ne la favorise jamais.
6. Gélatine nutritive dont l'azote est donné sous forme de peptone seulement.	Le peptone est une source d'azote mais remplace incomplètement les nitrates.	*Le peptone est utilisable comme source d'azote et peut remplacer les nitrates.*
7. Gélatine seule.	Il y a retard de développement et celui-ci est même arrêté quand l'expérience dure trop longtemps.	Le développement est retardé et ne se poursuit que pendant peu de temps.
8. Plaques poreuses.	Développement ralenti. Polymorphisme très accentué avec tendance des cellules à s'agrandir et à prendre la forme sphérique. Membranes plus épaisses.	Développement ralenti. *Pas de polymorphisme mais grosses cellules.* Membranes plus épaisses.
9. Action de la lumière électrique	Développement au bout du quatrième jour. Polymorphisme accentué. Cellules géantes.	Développement au bout du quatrième jour. *Pas de polymorphisme.* Cellules rondes et libres.
10. Action de l'obscurité.	L'algue se développe et contient de la chlorophylle à condition qu'elle ait de la glucose comme source de carbone. Colonies 3 ou 4 fois plus petites qu'à la lumière.	L'algue se développe, elle est verte mais le *substratum* doit être très nutritif. *Les colonies se développent plus vigoureusement qu'à la lumière.*

Digitized by Google

Cultures sur :	Scenedesmus	Chlorella
11. Action de la chaleur.	Température maximale 30°. Température minimale au-dessus 2°.	*Température maximale 35°. Température minimale au-dessous de 1,8°.*
12. Action du vide.	Développement au bout de 23 à 25 jours. Cellules un peu plus grosses qu'à la pression atmosphérique ordinaire.	Développement au bout du vingtième jour.

***

I. Notre première remarque sera pour faire ressortir *le rapport intime qu'il y a entre le développement de nos algues d'une part et le milieu dans lequel on les cultive d'autre part.* Les influences du milieu peuvent en quelque sorte être enregistrées mathématiquement sous forme du nombre de jours nécessaires pour que les colonies deviennent visibles à l'œil nu. Pour chacune de nos algues on peut donner un chiffre normal, un maximum et un minimum, à savoir:

Pour *Chlorella vulgaris*	durée normale du développement	6 à 8 jours.
	durée minimale	4 jours.
	durée maximale	15 à 20 jours.
Pour *Scenedesmus acutus*	durée normale du développement	8 à 10 jours.
	durée minimale	4 jours.
	durée maximale	23 à 25 jours.

***

II. Un autre fait remarquable est le *polymorphisme* de *Scenedesmus acutus*. Dans des circonstances semblables *Chlorella* ne présente que de faibles variations de forme et a surtout des variations de grandeur. Toutefois les résultats obtenus sur plaques poreuses sont à retenir. Pour *Scenedesmus* les cellules s'agrandissent, deviennent volontiers sphériques et à membrane épaissie. Pour *Chlorella* les cellules s'agrandissent aussi et épaississent leur membrane ; mais il n'y a pas changement de forme, l'algue étant normalement sphérique. Il nous vient donc à la pensée que la forme sphérique est probablement plus avantageuse que d'autres, peut-être tout simplement parce que c'est une forme qui a une grande surface pour un petit volume, ce qui permet de faciles échanges osmotiques entre l'algue et le milieu ambiant. Quand le milieu devient défa-

Digitized by Google

vorable parce qu'il n'entoure pas l'algue, comme c'est le cas pour les milieux solides et les plaques poreuses, l'algue tâche de se mettre le plus possible en contact avec lui en prenant une forme meilleure. Si cette algue est presque sphérique normalement ses changements de forme seront très minimes, si elle est fusiforme ils seront plus considérables. Dans le premier cas on sera enclin à dire que l'algue n'est pas polymorphe et dans le second cas que le polymorphisme est accentué. En réalité, il y aura eu une tendance identique dans les deux cas qui ne diffèrent que par leur intensité. Si cette théorie est juste les cultures pures devront montrer le polymorphisme surtout chez les algues dont la forme normale est très éloignée de la forme sphérique.

III. Un troisième point sur lequel nous attirons l'attention et auquel on a donné une grande valeur en bactériologie est l'*anaérobisme*. Or, pour nos algues du moins, ce caractère physiologique paraît être accidentel. *Chlorella* se développe très bien dans l'eau ordinaire, par conséquent contenant de l'air en dissolution; il en est de même de *Scenedesmus*. Ces algues sont donc aérobies. Mais si l'on vient à changer les qualités du milieu qui les entoure elles changent physiologiquement : *Scenedesmus* devient anaérobie dans l'agar et *Chlorella* le devient dans la gélatine. Ceci est une preuve de la grande plasticité de ces organismes inférieurs, plasticité leur permettant de vivre dans des conditions diverses.

IV. Certains facteurs physiques ou chimiques nous paraissent avoir une influence bien déterminée et constante :

1° La glucose active toujours le développement, au moins au début;

2° Le peptone peut être une source d'azote, mais ne favorise pas le développement;

3° La gélatine seule est un milieu nutritif insuffisant à la longue;

4° La lumière électrique continue est favorable; la lumière solaire directe est nuisible;

5° L'obscurité n'empêche ni le développement de l'algue, ni celui de sa chlorophylle pourvu que l'on ait soin de faire des

Digitized by Google

cultures dans un substratum suffisamment nutritif, par exemple contenant de la glucose.

Ces quelques indications seront sans doute utiles pour la culture d'autres espèces d'algues.

***

V. Nous avons indiqué plus haut que les organismes inférieurs sont doués d'une très grande plasticité, mais nous voyons d'autre part cette plasticité marcher de pair avec la propriété qu'a chaque espèce d'être constante dans ses réactions à l'égard d'un même facteur et les réactions varient d'une espèce à l'autre. Ainsi *Chlorella vulgaris* et *Scenedesmus acutus* supportent d'être cultivées sur des milieux solides, dans des solutions dont les qualités nutritives varient, qui sont différemment éclairées, dont la température est variable, etc., etc. Voici qui parle en faveur de la plasticité.

D'autre part, *Scenedesmus* liquéfie toujours la gélatine, *Chlorella* ne la liquéfie jamais. *Scenedesmus* ne supporte jamais 1 % de peptone et *Chlorella* peut toujours le supporter dans cette proportion. L'obscurité a pour résultats de plus petites colonies chez *Scenedesmus*, tandis qu'à l'obscurité les colonies sont toujours plus grandes chez *Chlorella*. Pour *Scenedesmus* le maximum de température est 30°, le minimum au-dessus de 2°; pour *Chlorella* le maximum est 35° et le minimum au-dessous de 1,8°. Voici qui prouve la constance des réactions pour une même algue et la variété de ces réactions d'une algue à l'autre.

Les organismes inférieurs sont donc soumis aux mêmes lois physiologiques que les organismes supérieurs. Les plantes supérieures ont, elles aussi, la constance des réactions pour une même espèce et un même facteur et leurs réactions varient d'une espèce à l'autre. Si elles ont encore une certaine plasticité elle est loin d'atteindre celle des algues et c'est ce qui rend l'étude de ces dernières si attachante.

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX

DE

PALÉONTOLOGIE VÉGÉTALE

PUBLIÉS DANS LE COURS DES ANNÉES 1897-1900

par M. R. ZEILLER (Suite).

L'étude qu'avait faite Schenk des empreintes végétales recueillies par M. F. von Richthofen dans le Nord de la Chine avait conduit à penser que les gisements houillers de cette région appartenaient à la zone la plus élevée de la formation stéphanienne; cette conclusion est confirmée pour le Chansi par le travail qu'a récemment publié M. Abbado (1) sur la flore fossile des gisements de To-jouan-fu (T'aè yuen fou), dans laquelle il a observé une nombreuse série d'espèces de Fougères et de Lycopodinées, dont l'une, *Tæniopteris multinervis*, atteste qu'en effet on a affaire là à la flore du Stéphanien tout à fait supérieur, sinon même de la base du Permien; l'affinité, avec diverses espèces de Commentry, de Fougères considérées par l'auteur comme des formes nouvelles fournit encore des indications dans le même sens. M. Abbado signale dans ces gisements du Chansi la présence des genres *Lepidodendron, Lepidophloios* et *Sigillaria*, qui n'avaient pas encore été observés en Chine, du moins avec certitude; mais pour ce dernier genre les diverses espèces qu'il en figure et qu'il rapporte au groupe des Clathrariées sont, à n'en pas douter, des *Lepidodendron* et probablement des formes diverses d'un seul et même type spécifique. Ce même genre *Lepidodendron* a été également reconnu par M. Krasser (2) sous forme de tiges décortiquées dans le Kan-Sou, et sous forme de rameaux feuillés dans le Turkestan chinois, en mélange avec des feuilles de Cordaïtes.

La flore permienne proprement dite n'a donné lieu qu'à un petit nombre de recherches : M. Fliche a reconnu (3) la présence à Ronchamp, à la base du Grès rouge, sur le même horizon que le gisement similaire bien connu du Val d'Ajol, de bois siliciflés appartenant à des

(1) M. Abbado : *Contributo alla Flora carbonifera della Cina* (Palæontogr. italica, V, p. 125-144, pl. XIV-XVIII ; 1900).

(2) F. Krasser : *Die von W. A. Obrutschew in China und Centralasien 1893-94 gesammelten fossilen Pflanzen* (Denkschr. k. Akad. Wiss. Wien, LXX ; 1900).

(3) P. Fliche : *Note sur les bois silicifiés de Ronchamp* (Bull. Soc. Géol. Fr., XXV, p. 1019-1023 ; 1898).

Digitized by Google

Cordaïtes. L'horizon plus élevé de Lodève m'a fourni (1) une riche série de Fougères, et en particulier de *Callipteris* très variés, dans lesquels on peut suivre tous les passages des formes pécoptéroïdes aux formes sphénoptéroïdes, si bien qu'il est impossible de les séparer génériquement les unes des autres ; j'ai pu retrouver parmi eux certains types spécifiques annoncés jadis par Ad. Brongniart, mais qui, n'ayant pu être reconnus, faute de définition suffisante, ont reçu plus tard d'autres noms ; j'ai en outre décrit trois nouvelles espèces de ce même genre *Callipteris*, ainsi qu'une nouvelle forme de *Cyclopteris* à grandes folioles trilobées.

En Amérique, M. Sellards (2) a donné un aperçu de la constitution de la flore permienne du Kansas, dans laquelle il a observé un nouveau type générique de Fougère, qui présente l'aspect d'un *Alethopteris* à frondes simplement pinnées et ressemble surtout aux *Cycadopteris* jurassiques ; il a donné à ce type le nom de *Glenopteris*.

Les modifications qui se sont produites vers le milieu ou la fin de l'époque houillère dans la répartition des formes végétales à la surface du globe, et ont abouti à la constitution de deux grandes provinces botaniques bien distinctes, ont fait l'objet de la part de M. Seward (3) comme de la mienne (4), d'exposés généraux dans lesquels nous avons l'un et l'autre résumé ce qu'on sait aujourd'hui de la flore à *Glossopteris* et de sa distribution ; je me suis efforcé notamment de déterminer, d'après les mélanges des deux flores observés sur divers points, la position de la limite commune de ces deux provinces, et j'ai montré qu'elle avait dû passer assez loin au nord de l'équateur dans la région sud-asiatique, tandis qu'elle traversait l'Amérique du Sud aux environs du 30e parallèle et qu'elle devait, en Afrique, être placée à assez peu de distance au nord du Transvaal.

En Australie, M. Dun (5) a fait de nouvelles recherches sur la flore des *Lower Coal Measures* de la série de Greta, qui comprend, avec un *Annularia* voisin de ceux de notre flore houillère, plusieurs espèces de *Glossopteris* et de *Gangamopteris* ; il y a observé une forme spécifique nouvelle, *Sphenopteris grandis*, à grandes pinnules cuneiformes, lobées au sommet, qui semblent opposées par paires assez éloignées les unes des autres, si bien qu'on peut se demander s'il ne s'agirait pas là d'une Sphénophyllée plutôt que d'une Fougère. Il a fait connaître

(1) R. Zeiller : *Contribution à l'étude de la flore ptéridologique des schistes permiens de Lodève* (Bull. Mus. de Marseille, I, fasc. 2, p. 9-67, pl. II-IV ; 1898).

(2) E. H. Sellards : Note on the Permian Flora of Kansas (*Kansas Univ. Quart.*, IX, p. 63-64 ; 1900) ; A new genus of Ferns from the Permian of Kansas (*Ibid.*, IX, p. 179-189, pl. XXXVII-XLII ; 1900).

(3) A. C. Seward : The Glossopteris Flora (*Science Progress*, 1897, I, p. 178-201).

(4) R. Zeiller : Les provinces botaniques de la fin des temps primaires (*Revue Gén. des sciences*, VIII, p. 5-11 ; 1897).

(5) W. S. Dun : Additions to the Permo-Carboniferous Flora of N. S. Wales (*Rec. Geol. Surv. N. S. W.*, V, p. 64-65, pl. IX ; 1897 ; VI, p. 46-51, pl. VI ; 1898).

Digitized by Google

également deux nouvelles espèces de *Glossopteris* des *Upper Coal Measures* de Newcastle, et Sir F. Mac Coy (1) a signalé un *Tæniopteris* nouveau dans la flore des grès de Bacchus-Marsh dans l'Etat de Victoria.

La flore à *Glossopteris* du sud de l'Afrique s'est enrichie, grâce aux explorations des géologues locaux, en particulier de M. Draper (2) et de M. Andrews (3), de localités nouvelles, ainsi que de quelques nouvelles formes végétales. Le fait le plus intéressant est la découverte, au milieu de cette flore à *Glossopteris* du Transvaal, de fragments de tiges de Sigillaires du groupe des Clathrariées, que M. Seward (4) a pu, bien qu'ils fussent assez imparfaitement conservés, rapporter au *Sigillaria Brardi*, si répandu dans notre flore stéphanienne et permienne inférieure. M. Seward a reconnu également dans cette flore un *Gangamopteris*, ainsi qu'une graine du genre *Cardiocarpus*, et un petit fragment de cône. L'étude qu'il a faite en même temps des diverses formes de *Glossopteris*, *Gl. Browniana*, *Gl. indica* et *Gl. angustifolia*, le porte à ne voir en elles que de simples variétés d'une même espèce, *Gl. Browniana*; je suis toutefois, je l'avoue, assez peu disposé, à moins de preuves plus démonstratives, à me ranger à cette opinion.

Les échantillons recueillis sur divers points de l'Afrique allemande et portugaise par MM. Lieder et Bornhardt ont montré, en outre, que la flore à *Glossopteris* s'était étendue jusque dans la région du lac Nyassa, vers le fleuve Ruflyi, M. Potonié (5) ayant reconnu dans ces échantillons des *Vertebraria*, des *Glossopteris* et peut-être des lambeaux de *Gangamopteris*.

Enfin, on doit à M. Amalitzky (6) une découverte du plus haut intérêt, touchant l'extension des types de la flore à *Glossopteris*

(1) Sir F. Mc Coy : Note on an additional genus of fossil plants found in the Bacchus Marsh Sandstone (*Proc. Roy. Soc. Victoria*, X, p. 285-286; 1898).

(2) D. Draper : On the occurence of *Sigillaria*, *Glossopteris*, etc., and other plant-remains in the Triassic rocks of South Africa (*Quart. Journ. Geol. Soc.*, LIII, p. 310-314; 1897).

(3) A. J. Andrews : Discovery of fossils at Witkopje Pan (*Trans. Geol. Soc. S. Africa*, III, p. 146; 1898).

(4) A. C. Seward : On the association of *Sigillaria* and *Glossopteris* in South Africa (*Quart. Journ. Geol. Soc.*, LIII, p. 315-338, 3 fig., pl. XXI-XXIV; 1897).

(5) H. Potonié : Zur fossilen Flora Ost-Afrikas (*Sitzungsber. Ges. naturforsch. Freunde*, 1899, p. 96-97); Fossile Pflanzen aus Deutsch-und Portugiesisch-Ost-Afrika. In-8°, 19 p., 7 fig. (*Deutsch-Afrika*, vol. VII; 1900).

(6) W. Amalitzky : Note sur les nouvelles trouvailles paléontologiques faites dans les dépôts sablo-marneux permiens de la Soukhona et de la Petite Dvina (*Trav. Soc. imp. natur. St-Pétersbourg*, XXVIII, p. 106-113; 1897); Sur les fouilles de 1899 de débris de Vertébrés dans les dépôts permiens de la Russie du Nord (*Trav. Soc. natur. Varsovie*, XI, p. 177-198; p. 201-220; 1900); Sur la découverte, dans les dépôts permiens supérieurs du Nord de la Russie, d'une flore glossoptérienne et de reptiles Pareiasaurus et Dicynodon (*C. R. Acad. sc.*, CXXXII, p. 591-593; 1901).

Digitized by Google

jusque dans le Nord-Est de la Russie durant la dernière partie de l'époque permienne : il a trouvé en effet, dans les dépôts permiens supérieurs des vallées de la Soukhona et de la Petite Dvina, une flore composée, d'une part, des types normaux de notre flore permienne, *Callipteris* et *Tæniopteris* notamment, d'autre part de *Glossopteris*, *Gl. indica*, *Gl. angustifolia*, *Gl. stricta*, avec *Vertebraria*, et de *Gangamopteris*, *Gang. cyclopteroides* et *Gang. major*, comme dans la flore des *Lower Gondwanas* de l'Inde. J'ai fait remarquer (1) que ce fait inattendu devait sans doute être considéré comme une preuve des migrations qui ont dû s'accomplir vers la fin de l'époque permienne et qui ont eu pour effet de rétablir, par voie d'échanges mutuels entre les deux provinces, l'uniformité de végétation qui avait existé antérieurement sur toute la surface du globe et qui paraît être redevenue à peu près complète dès la fin, sinon même dès le milieu de l'époque triasique. J'ai émis l'avis que quelques-uns des types de notre flore triasique inférieure, *Nevropteridium*, *Schizoneura*, et peut-être *Voltzia*, si parfaitement semblables à ceux de la flore permo-triasique de l'Inde, avaient dû pénétrer dans nos régions en même temps que les *Glossopteris*, mais pour y persister plus longtemps que ces derniers, qui semblent n'y avoir fait qu'une apparition éphémère.

B. — *Etudes spéciales des groupes de végétaux paléozoïques.*

Les échantillons recueillis par M. Ralli dans le bassin d'Héraclée m'ont fourni (2) quelques renseignements nouveaux sur la constitution, soit des frondes, soit des fructifications, d'un certain nombre de Fougères houillères : j'ai montré que le *Sphenopteris bermudensiformis* (*Sph. distans* Sternb.) du Culm avait des frondes bifurquées, comme le *Sph. Hœninghausi*, mais dont les branches seules étaient feuillées, la partie inférieure du rachis demeurant nue comme chez les *Diplotmema*, et que ces frondes s'inséraient tout autour d'une tige présentant les caractères extérieurs des *Lyginodendron*; j'ai conclu de là que le *Lyginodendron Oldhamium*, type d'un des principaux groupes de Cycadofilicinées, pouvait représenter la tige, non seulement du *Sphen. Hœninghausi* auquel l'a rattaché Williamson, mais encore de quelques autres espèces affines. J'ai signalé en outre, sous le nom de *Pecopteris Armasi*, une forme spécifique nouvelle, de l'étage des Caradons, qui semble former passage entre les *Pecopteris* vrais et les *Callipteridium*, les

(1) R. Zeiller : Sur la découverte, par M. Amalitzky, de *Glossopteris* dans le Permien supérieur de Russie (*Bull. Soc. Bot. Fr.*, XLV, p. 392-396 ; 1899).

(2) R. Zeiller : Observations sur quelques Fougères des dépôts houillers d'Asie Mineure (*Bull. Soc. Bot. Fr.*, XLIV, p. 195-218, 12 fig., pl. VI ; 1897) ; Étude sur la flore fossile du bassin houiller d'Héraclée (*Mém. Soc. Géol. Fr., Paléont.*, VIII-IX, Mém. n° 21 ; 1899).

Digitized by Google

pinnules inférieures des pennes latérales venant, au voisinage des bords de la fronde, s'insérer sur le rachis principal.

Un échantillon de *Palmatopteris alata* m'a offert, à l'extrémité des pennes, des fructifications du type *Calymmatotheca*, à sporanges fusiformes réunis en synangium au nombre de 8 à 12 et soudés les uns aux autres sur une partie de leur longueur : le genre *Palmatopteris*, dont le mode de fructification était inconnu, vient ainsi se ranger parmi les Eusporangiées; certains détails m'ont amené à penser que ces sporanges devaient être noyés dans le parenchyme foliaire, comme chez les Ophioglossées, et qu'il s'agissait peut-être là d'un groupe intermédiaire en quelque sorte entre celles-ci et les Marattiacées.

Dans la belle étude (1) qu'il a faite de l'appareil sporifère de ces dernières, M. Bower a passé en revue les représentants fossiles des Marattiacées et a discuté les affinités de certains genres de Fougères houillères qui leur ont été rattachés : il doute notamment qu'il faille rapporter à cette famille, à moins d'en élargir le cadre, les formes dans lesquelles les sores, au lieu de la disposition « radiée unisériée » caractéristique des types vivants, présentent des sporanges étagés les uns au-dessus des autres, comme c'est le cas, par exemple, chez les *Discopteris*.

Les sporanges d'une nouvelle espèce de ce dernier genre, rencontrée dans les couches westphaliennes d'Héraclée, m'ont offert une différenciation graduelle très accentuée, avec de grandes cellules à parois épaissies sur la région dorsale, passant, sur la région ventrale, à des cellules étroites, allongées, à parois minces, le long desquelles devait se faire la déhiscence, marquant ainsi comme un acheminement vers les sporanges des Osmondées.

J'ai rapproché de ces dernières un type générique nouveau de Sphénoptéridée, recueilli également à Coslou, *Kidstonia heracleensis*, à sporanges ovoïdes, munis d'une bande étendue de cellules épaissies, formant presque une calotte apicale incomplète, et faisant songer, par ce caractère comme par l'isolement des sporanges, uniques dans chaque sore, aux *Lygodium* et par conséquent aux Schizéacées. J'ai signalé à cette occasion la présence fréquente, sur la calotte apicale des *Lygodium*, de plusieurs rangs de cellules étagées, ce qui vient à l'appui de l'attribution aux Schizéacées du genre houiller *Senftenbergia*, à calotte apicale formée de deux à quatre étages de cellules. J'ai fait remarquer que ces différentes formes pouvaient être regardées comme les termes successifs d'une série allant des Marattiacées aux Schizéacées par l'intermédiaire des Osmondées.

Enfin, j'ai fait connaître, de ce même bassin d'Héraclée, deux types nouveaux d'appareils fructificateurs, que je ne rapproche des Fougères qu'avec quelques doutes, *Potoniea* et *Plinthiotheca* : le premier offrant,

(1) F. O. Bower : Studies in the morphology of spore-producing members. III. Marattiaceæ (*Phil. Trans. Roy. Soc.*, vol. 189 B, p. 35-81, pl. 7-11 ; 1897).

Digitized by Google

le long d'un axe à ramification pennée, des segments cunéiformes à limbe épais, chargés, tout au moins sur leur bord supérieur, de petites capsules fusiformes ressemblant à des sporanges de *Crossotheca* ou de *Calymmatotheca;* le second présentant un limbe elliptique, probablement pelté, couvert sur toute son étendue de capsules réunies par quatre en groupes carrés contigus, affectant l'aspect de synangium d'*Asterotheca.*

M. F. Ryba (1) a observé dans le bassin houiller de Mirôschau en Bohême une nouvelle et intéressante forme spécifique de tige de Fougère, du genre *Megaphytum*, dont la trace foliaire est formée de deux bandes symétriques indépendantes, forme voisine surtout du *Meg. Mc Layi* du Stéphanien.

M. R. Etheridge (2) jun. a rapporté aux Fougères de curieux échantillons à structure conservée, provenant de l'horizon des *Upper Coal Measures* de Newcastle, dans la Nouvelle-Galles du Sud, et composés d'un axe, tige ou rhizôme, portant de distance en distance des bouquets de très petites frondes ovales-linéaires, longues seulement de 10 à 12 millimètres, affectant la forme et l'aspect de frondes extrêmement réduites de *Glossopteris*, mais à nervures non anastomosées. Quelques-unes de ces frondes, dont le groupement en bouquets rappelle certains *Oleandra*, ont offert à leur face inférieure, le long de leur bord replié en dessous, des taches ponctiformes qui semblent pouvoir correspondre à des sporanges. Entre ces frondes se montrent de petites écailles très analogues aux feuilles écailleuses de *Glossopteris.* Le fait le plus intéressant est la présence, dans l'axe commun, d'un anneau bien développé de bois secondaire centrifuge entourant une masse centrale de bois primaire; la région axiale étant décomposée, il est impossible de savoir si la stèle primaire était pleine ou si elle comprenait au centre un axe parenchymateux. On regrette toutefois l'absence de coupes longitudinales et l'ignorance qui en résulte quand à la constitution des éléments de ces deux bois, primaire et secondaire. Il est à souhaiter que l'auteur puisse compléter son étude sur ce point.

M. J. Butterworth (3) a signalé, de son côté, la présence d'un bois secondaire dans les racines d'un *Psaronius* du terrain houiller d'Angleterre; mais en l'absence du cylindre central, et bien que ces racines se montrent nombreuses et rapprochées comme celles des *Psaronius*, on peut se demander, étant donné leur ressemblance avec les racines

(1) F. Ryba : Ueber ein neues Megaphytum aus dem Mirôschauer Steinkohlenbecken (*Sitzungsber. k. böhm. Gesellsch. Wiss.*, 1899, Nr. X, 6 p., 4 pl.).

(2) R. Etheridge jun. : On a farn (*Blechnoxylon talbragarense*) with secondary wood, forming new genus, from the Coal-measures of the Talbragar district, New South Wales (*Rec. Austral. Mus.*, III, p. 135-147, pl. 24-27; 1899).

(3) J. Butterworth : Further research on the structure of Psaronius, a tree-fern of the Coal-Measures (*Mem. and Proc. Manchester lit. and phil. Soc.*, XLIII, Mem. II, 8 p., 1 pl.; 1899).

Digitized by Google

de Lyginodendrées désignées sous le nom de *Kaloxylon Hookeri*, s'il s'agit bien ici de *Psaronius*, c'est-à-dire de Fougères véritables, et non de Cycadofilicinées; l'auteur incline du reste lui-même, tout en leur appliquant la dénomination générique de *Psaronius*, à attribuer ces racines à un *Heterangium*.

M. Scott (1) a étudié quelques rhizômes ou tiges de Fougères du terrain houiller, et a reconnu le *Rachiopteris Grayii* Will. comme étant un *Zygopteris*, le *Rach. hirsuta* Will. comme un *Botryopteris;* au point de vue de la structure de leurs tiges (2), c'est avec les Hyménophyllées que les Botryoptéridées lui semblent offrir le plus d'analogies.

(1) D. H. Scott : On the structure of Zygopteris; On an English Botryopteris (*Rep. Brit. Ass. Adv. Sci.*, Bristol 1898, p. 1050).

(2) D. H. Scott : Studies in fossil botany; 1900.

(A suivre).

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX
DE PHYSIOLOGIE ET DE CHIMIE
VÉGÉTALES

PARUS DE 1893 à 1900 (*Suite*)

V. — Échanges gazeux.

La plupart des expériences faites dans ces derniers temps sur les échanges gazeux intéressaient un membre isolé de plante, une feuille par exemple, ou bien elles portaient sur une plante entière pendant une période plus ou moins courte de son développement. Schlœsing fils (1), frappé de l'insuffisance de ces méthodes, s'est proposé de compléter les recherches de Bonnier et Mangin en faisant le bilan des échanges gazeux d'une plante pour toute la durée de sa végétation.

A cet effet, on sème des graines (Cresson, Houque) en solution nutritive et l'on introduit le tout en vase clos avec un mélange gazeux aux proportions connues ($Az.O.CO^2$). Lorsque les plantes ont pris un développement suffisant, on extrait les gaz qui sont alors analysés ainsi que les plantes et le substratum nutritif.

L'examen de ces résultats analytiques montre que le rapport $\frac{O}{CO^2}$ est voisin de celui que Bonnier et Mangin avaient trouvé pour l'assimilation seule (1.33 pour le Cresson ; 1.22 pour la Houque). Il y a donc émission d'un volume d'oxygène plus grand que celui qui proviendrait de la réduction du gaz carbonique absorbé et c'est précisément ce qui explique l'excès d'hydrogène renfermé dans les plantes.

D'autre part, l'oxygène fourni aux plantes par les gaz introduits et par l'eau est inférieur à la quantité de ce corps accumulé pendant la végétation. D'où il suit que les plantes doivent emprunter une certaine proportion d'oxygène (1/4 de la quantité totale du gaz dégagé) aux sels oxygénés qui existent dans le sol. Cette notion capitale concorde parfaitement avec les travaux sur la réduction des nitrates par les plantes (Emmerling, Monteverde, Schimper, Berthelot et André).

En somme « dans toute la durée de l'évolution d'une plante, la résultante des actions chimiques dont son corps est le siège est une réduction

(1) Schlœsing fils : *Sur les échanges gazeux d'acide carbonique et d'oxygène entre les plantes et l'atmosphère* (Ann. de l'Institut Pasteur, VII, p. 28.)

Digitized by Google

de l'acide carbonique, de l'eau et des sels oxygénés introduits par le sol ou fabriqués par elle. »

Si l'on possède, à l'heure actuelle, un grand nombre de documents sur la nature des échanges gazeux photochlorophylliens, sur les variations de ces échanges eu égard à la structure des organes verts et aux conditions de milieu, on est loin d'être aussi avancé en ce qui concerne le *mécanisme intime* de l'action des chloroleucites dans la réduction du gaz carbonique.

Belzung (1), à la suite de ses recherches sur l'amylogenèse, fait observer que la théorie d'après laquelle le carbone de l'anhydride carbonique passe transitoirement à l'état d'aldéhyde formique au cours de son assimilation est tout à fait hypothétique. Selon cet auteur, on peut très bien admettre que la substance amylacée provient non d'une simple combinaison du carbone de l'anhydride carbonique avec les éléments de l'eau, telle par exemple que l'aldéhyde formique, mais de la décomposition même, d'une sorte de sécrétion des corps chlorophylliens, d'où procèdent, nécessairement aussi, indépendamment de l'amidon, des principes azotés solubles, qui se diffusent au fur et à mesure dans le parenchyme vert.

C'est dire, écrit l'auteur précédent, que le carbone de l'anhydride carbonique se trouve d'abord incorporé à la substance albuminoïde des chloroleucites, solidairement avec les principes essentiels de la sève brute, car ceux-ci disparaissent comme tels à mesure qu'ils arrivent aux feuilles. Et ce n'est qu'à la suite de ce vaste travail de synthèse organique, portant sur la totalité de l'aliment minéral, ce que l'on peut nommer l'*assimilation chlorophyllienne totale*, que naît l'amidon, par dédoublement des principes protéiques ainsi engendrés.

Et il suffit, dès lors, que les corps chlorophylliens cessent d'assimiler l'aliment total dans la mesure où leur propre substance se décompose, pour que les grains d'amidon se substituent à cette dernière, par une sorte de fonte, comparable à celle par laquelle la graisse prend naissance dans les cellules animales ou encore l'huile essentielle dans le péricarpe du Citronnier.

Si cette interprétation des faits renferme des éléments de vérité, l'amylogenèse doit cesser, non seulement en l'absence d'anhydride carbonique dans le milieu ambiant, mais encore en l'absence de tout élément essentiel indispensable à la constitution de la substance des corps chlorophylliens, ce qui est précisément le cas pour le potassium, comme plusieurs expérimentateurs l'ont montré.

Mais dans un chloroleucite, qu'est-ce qui sert à la fixation du carbone, la substance protoplasmique ou le pigment vert, ou bien les deux réunis?

(1) Belzung : *Marche totale des phénomènes amylochlorophylliens.* (Journal de Botanique, IX, avec 2 planches 1895). Voir aussi, page 590 et suivantes, son excellent ouvrage, *Anatomie et Physiologie végétales*, paru récemment. (Paris, chez Alcan, 1900).

Digitized by Google

Boussingault, puis Jodin ont montré que la chlorophylle extraite par les dissolvants est incapable de réduire le gaz carbonique. Regnard est arrivé de son côté à une conclusion opposée.

Kny (1) a repris la question d'après la méthode de Regnard un peu modifiée et il a confirmé la conclusion négative de Boussingault. Le bleu Coupier était remplacé, dans ses expériences par le carmin d'indigo, la nigrosine soluble à l'eau, tous réactifs qui sont incapables de bleuir sous l'influence de la lumière seule. Ces réactifs ne bleuissent pas non plus quand des bourgeons verts ont été tués par la dessiccation, la chaleur ou les anesthésiques, alors que le bleuissement apparaît avec des bourgeons semblables mais vivants. La méthode des bactéries, du reste, corrobore les indications précédentes.

Donc la cellule verte doit être vivante pour assimiler et c'est là, déjà, un point très important. Mais les chloroleucites peuvent-ils fonctionner, quand ils sont isolés de la cellule où ils se trouvent normalement? Engelmann a obtenu un résultat positif en opérant sur les chloroleucites des *Mesocarpus*, *Spirogyra, Navicula*, *Closterium;* Haberlandt aussi avec les chloroleucites de *Funaria.*

Kny, en appliquant la méthode des Bactéries à l'étude de chloroceucites isolés par pression du cytoplasma, a montré que ces organites ne peuvent, dans de telles conditions, décomposer le gaz carbonique. Il a montré en outre qu'il n'y a aucun parallélisme entre l'influence des agents extérieurs sur la fonction chlorophyllienne et les propriétés du noyau et du protoplasma.

Mais ces résultats ont été contestés depuis par Ewart (2) qui croit pouvoir confirmer les vues d'Engelmann et de Haberlandt.

Comment les échanges gazeux se font-ils au travers de l'épiderme des organes ? Evidemment les gaz pénètrent par *dialyse*, mais leur passage se produit-il aussi par *filtration* au travers des orifices stomatiques ? Garreau, Merget, Sachs puis Mangin, Wiesner et Molish, par des méthodes diverses ont été amenés à penser que la filtration stomatique joue un rôle important dans ce phénomène de pénétration des gaz. Mais Boussingault et d'autres expérimentateurs sont arrivés à une conclusion opposée.

La question a été de nouveau remise à l'étude par Stahl (3) et Blackmann (4).

Stahl recouvre de cire la face stomatifère d'une feuille et constate

(1) Kny : *Die Abhängigkeit der Chlorophyllfunction von den Chromatophoren und von Cytoplasma* (B. d. deut. Bot. Gesell. 1897).

(2) Ewart : The relations of chloroplastid and cytoplasma (Bot. Centralb. LXXII. 1897).

(3) Stahl : *Einige Versuche ueber Transpiration und Assimilation* (Bot. Zeit. 1894).

(4) Blackmann : Philosoph. Transaction CLXXXIV. 1895.

Digitized by Google

qu'il n'y a plus de granules amylacés dans les chloroleucites ; l'assimilation est alors, selon lui, très entravée par occlusion des stomates. D'autre part, seules les feuilles dont les stomates ne se ferment pas par la dessiccation, peuvent encore assimiler, même quand elles sont fanées. L'auteur apprécie l'intensité de la transpiration d'une face de feuille en appliquant sur cette face un papier imbibé d'une solution de chlorure de cobalt à 5 o/o. Grâce à ce procédé, analogue à celui qu'employait autrefois Merget, on voit que c'est bien en face des stomates que se manifeste l'action la plus énergique de la vapeur d'eau sur le sel qui imprègne le papier. Enfin cette ouverture ou cette fermeture des stomates joueraient un rôle très important dans la fanaison et la chute des feuilles. Selon Blackmann, les stomates constituent pratiquement le seul passage pour le gaz carbonique. Lorsque ces organes sont fermés, il y a osmose appréciable de l'acide carbonique seulement si la tension de ce gaz, dans l'atmosphère ambiante, est assez forte, et c'est précisément ce qui avait lieu dans l'expérience de Boussingault. La proportion du gaz carbonique dans l'air n'est pas suffisante pour qu'il y ait osmose au travers d'une feuille à stomates fermés. Ce qui a conduit Boussingault à nier le rôle des stomates, c'est que la différence d'assimilalion sur les deux faces d'une feuille (l'une des faces étant dans chaque expérience rendue imperméable par une feuille de papier noirci collée sur l'épiderme), existe encore quand, la face supérieure recevant la lumière, on bouche les stomates de la face inférieure avec de la graisse (1).

Au cours de ses recherches, Blackmann est arrivé encore à cette conclusion que la cuticule des jeunes feuilles semble aussi perméable que celle des feuilles âgées. Il a trouvé aussi que dans une lumière vive tout l'acide carbonique produit par la respiration est assimilé par les tissus et qu'il n'y a pas de dégagement de ce gaz.

Un certain nombre de plantes appartenant à des espèces voisines ou à des variétés d'une même espèce ont des feuilles qui diffèrent par l'intensité de la teinte verte et dès lors par la structure. Griffon (2) s'est proposé de rechercher quelles influences ces variations anatomiques peuvent avoir sur l'assimilation. Les résultats obtenus montrent que l'examen de la coloration des feuilles ainsi que de la structure ne permet pas toujours de prévoir, et quelquefois même d'expliquer, l'intensité de la fonction chlorophyllienne. Certes, très souvent, les feuilles d'un vert foncé (certaines variétés de Céréales, de Laitues et de Romaines, de Bégonias et de Fuchsias) ont une énergie assimilisatrice supérieure à celle des feuilles de variétés voisines et qui sont d'un vert pâle ; les chloroleucites sont alors plus nombreux dans chaque cellule, ou bien

(1) On reviendra dans la prochaine Revue sur cette question.

(2) Griffon : *L'assimilation chlorophyllienne et la coloration des plantes* (Ann. sc. nat. Bot., 8e série, t. X, p. 1, 1899). Thèse de Doctorat. Paris, 1899.

Digitized by Google

ils sont plus gros et chacun d'eux est plus riche en matière verte ; le tissu palissadique est également plus développé.

Mais il y a des cas dans lesquels des feuilles ayant la même teinte verte assimilent différemment. C'est ce qui arrive pour certaines variétés de Fuchsias où l'on rencontre des feuilles également vertes mais d'épaisseur différente ; les feuilles les moins épaisses ont leurs cellules plus riches en chlorophylle, ce qui produit une assimilation plus intense.

Il arrive même que des feuilles d'un vert pâle assimilent autant et même plus que des feuilles d'un vert foncé (Pêcher, Prunier, Canna, Chrysanthème, Troëne) Il devient alors très difficile et quelquefois même impossible de donner anatomiquement une explication de ces faits physiologiques. Il doit donc y avoir dans les plantes, en dehors des variations de la structure et de la quantité de matière verte, d'autres causes qui influent sur l'énergie assimilatrice.

De Lamarlière (1) ayant étudié les variations morphologiques des feuilles d'Ombellifères, s'est demandé dans quelle mesure ces variations retentissent sur les fonctions physiologiques et notamment sur l'assimilation. Il a trouvé que cette fonction s'exerce avec d'autant plus d'intensité que les assises en palissade sont plus nombreuses. Pour une même surface, toutes les conditions étant égales d'ailleurs, les feuilles à deux ou trois assises superposées (*Seseli Fœniculum*) assimilent deux ou trois fois plus que les feuilles des espèces qui n'ont qu'une seule assise en palissade (*Angelica silvestris*, *Heracleum*). L'auteur en conclut que ces résultats prouvent, en dehors du rôle considérable du tissu palissadique dans l'assimilation, que les assises externes des feuilles épaisses, bien que joignant le rôle d'écran par rapport aux assises situées au-dessous, gênent très peu la décomposition du gaz carbonique dans ces dernières.

Griffon (2) a consacré une étude à l'assimilation chez les plantes à *feuillage coloré*. S'il s'agit de plantes à *feuillage pourpre*, on sait que la coloration est due à un pigment dissous dans le suc cellulaire, l'*anthocyanine* ou *érythrophylle*. La formation de cette substance a été examinée récemment par Overton (3) qui a été conduit à penser qu'elle pourrait bien être un glucoside résultant de la combinaison de sucres en excès avec les tannins du suc cellulaire. Ses propriétés spectroscopiques ont été étudiées par Pick, Kraus, Enhelmann ; or le spectre d'absorption trouvé est sensiblement complémentaire de celui de la chlorophylle. Stahl (4), qui s'est occupé également de cette question en

(1) L. Géneau de Lamarlière : *Recherches biologiques sur les Ombellifères*. Thèse de Doctorat, 2e mémoire, Paris, 1893.

(2) Loc. cit.

(3) Jahrb. f. wiss. Bot. XXXIII. 2. 171. 1899.

(4) *Ueber die bunte Laubbältter* (Ann. du jardin bot. de Buitenzorg, XII. 2. 137. 216. 1896).

Digitized by Google

a déduit que la matière rouge des feuilles pourprées ne peut en aucune façon gêner l'assimilation dans les cellules des feuilles qui, elles, contiennent non seulement cette substance dans leurs vacuoles, mais encore de la chlorophylle dans leur protoplasma comme chez les feuilles vertes.

Pourtant il faut remarquer que les bandes III et IV de la chlorophylle sont absorbées par l'anthocyanine et que les trois larges bandes de la moitié la plus réfrangible du spectre sont un peu affaiblies. Et de fait, Griffon a pu établir expérimentalement qu'une solution de subtance rouge nuit un peu à l'assimilation des tissus verts placés derrière elle. Mais cette action nuisible doit dans la nature varier avec l'intensité de coloration des cellules à anthocyanine, le nombre de ces dernières et leur répartition. Il peut donc très bien arriver que, dans la feuille elle-même, l'action nuisible de l'anthocyanine soit négligeable. Les résultats suivants vont, en effet, le montrer.

Parmi les plantes dont le feuillage est coloré en rouge, quelques-unes ont une énergie assimilatrice inférieure à celle des mêmes espèces dont elles ne sont que des variétés (Betterave rouge, Coudrier pourpre, *Prunus Pissardi*, Sycomore pourpre, *Canna* à feuilles rouges, *Arum* et *Pelargonium* à feuilles maculées.)

Assez souvent l'énergie assimilatrice des feuilles rouges se trouve comprise entre la moitié et les trois quarts de celle des feuilles vertes. Dans le *Prunus Pissardi*, comparé au *Prunus Myrobolana*, le rapport s'abaisse à 1/4 en été, et chez certains *Coleus* à 1/6 et même à 1/7.

Parfois la raison de cette infériorité tient à une épaisseur moindre du mésophylle ; mais d'une manière générale, il faut la chercher dans la plus faible coloration verte des chloroleucites, par conséquent dans la pauvreté de la feuille en chlorophylle.

Par contre, d'autres plantes, comme l'Arroche rouge, le Hêtre et l'Epine-Vinette pourpres (les deux premières ayant de la matière rouge dans l'épiderme seulement et la troisième dans l'assise palissadique) ont une énergie assimilatrice égale à celle des plantes vertes de la même espèce. Mais alors, l'épaisseur des feuilles est la même et les cellules sont aussi riches en chlorophylle.

Dans ce dernier cas on voit que la substance rouge n'a exercé aucune action nuisible sur le verdissement et sur l'assimilation. Il est donc vraisemblable d'admettre que chez les autres plantes rouges qui renferment davantage d'anthocyanine, cette action n'est pas importante et que les différences d'assimilation avec les plantes vertes tiennent en grande partie, soit à la plus faible épaisseur des feuilles, soit à la richesse moindre des cellules en chlorophylle.

Quant aux feuilles qui rougissent au printemps, comme celles du Chêne, des Pivoines, etc, elles ont une énergie assimilatrice inférieure à celle des feuilles restées vertes ; il y a de l'anthocyanine dans les cellules palissadiques et les chloroleucites sont plus faiblement colorés.

Les feuilles qui rougissent à l'automne avant de tomber, comme

Digitized by Google

celles de la Vigne-vierge, cessent de dégager de l'oxygène peu de temps après que la coloration apparaît; les chloroleucites perdent alors complètement leur matière verte et se désorganisent; l'anthocyanine envahit presque toutes les cellules et les feuilles prennent une belle teinte d'un rouge éclatant; elles respirent encore, puis se flétrissent et meurent.

La Vigne se colore aussi, mais accidentellement, pendant les mois d'Août et de Septembre; elle est alors atteinte de cette affection dont la cause est purement météorique et qu'on nomme le *rougeot*. Dans ce cas, le tissu palissadique est envahi par l'anthocyanine; les chloroleucites perdent une partie de leur matière verte, ce qui affaiblit l'énergie assimilatrice; puis les parties rouges finissent, au bout d'un temps variable, par subir le même sort que dans la Vigne-vierge.

Le rougissement se produit aussi à l'automne et régulièrement chez des feuilles persistantes comme celles du *Mahonia* par exemple. L'anthocyanine apparaît dans les cellules palissadiques; les chloroleucites se décolorent un peu et la décomposition de l'acide carbonique se fait avec moins d'énergie. Si la feuille est âgée, elle perd toute sa chlorophylle, rougit et périt. Dans le cas contraire elle redevient verte au printemps et recommence à fonctionner.

Enfin, chez les Conifères et le Buis, des rameaux entiers prennent une coloration brune. Cette coloration est due, ainsi que l'a montré Kraus par des études spectroscopiques à la transformation de la matière verte, en une substance de couleur brune, probablement la chlorophyllane, sous l'influence du froid; quant à la xanthophylle elle n'est pas altérée. Au réveil de la végétation, la chlorophylle se reforme. Or, pendant l'hiver, les rameaux qui ont bruni cessent de dégager de l'oxygène à la lumière, mais, au printemps, la fonction assimilatrice se manifeste à nouveau.

Quant aux feuilles dites *panachées* ou *dorées* et dont les cellules renferment des xantholeucites plus ou moins atteints elles ne décomposent pas l'acide carbonique à la lumière ou du moins il est impossible, par les méthodes directes volumétriques, de mettre en évidence cette décomposition qui aurait été observée par Engelmann avec sa méthode des Bactéries.

(*A suivre*). ED. GRIFFON.

450 — Lille, imp. Le Bigot frères. Le Gérant: Th. Clerquin

Digitized by Google

OBSERVATIONS SUR LES GLANDES PÉTIOLAIRES DU *VIBURNUM OPULUS*

par M. M. THOUVENIN

On sait que le pétiole chez le *Viburnum Opulus* offre à sa face supérieure une profonde gouttière sur les bords de laquelle on remarque de petites glandes cupuliformes rougeâtres.

Le nombre de ces petites glandes n'est pas constant même sur les pétioles d'un même pied ; mais toujours on en trouve au moins une paire située alors près du limbe, parfois même en contact avec lui (fig. 18).

Les autres glandes, quand il y en a plus de deux, se rencontrent le long de la moitié supérieure du pétiole ; elles n'affectent pas toujours une disposition régulièrement géminée ; serrées les unes contre les autres dans le voisinage du limbe, elles s'espacent à mesure qu'elles s'en éloignent (fig. 19 et 20).

Parfois encore, sur le bord du limbe, on voit de pareilles glandes, une ou deux, trois au plus (fig. 20, *gl*).

Fig. 18. — *Viburnum Opulus* : une seule paire de glandes pétiolaires située près du limbe.

En outre, à la base du pétiole il y a toujours une paire, plus rarement deux ou trois, de petits appendices filamenteux, longs environ de un centimètre, terminés soit en pointe (fig. 19 et 20), soit par une petite glande ovoïde déprimée au sommet (fig. 18).

Les appendices surmontés d'une glande prédominent chez certains individus ; chez d'autres, au contraire, ils sont relativement rares.

Il peut arriver que ces appendices soient concrescents sur une

Digitized by Google

plus ou moins grande longueur avec le pétiole ; ils paraissent alors avoir leur insertion bien au-dessus de sa base.

Beaucoup de botanistes descripteurs regardent les appendices basilaires du pétiole comme des stipules : stipules sétacées (1), stipules linéaires herbacées (2), etc., mais en réalité ce ne sont pas des stipules, puisqu'ils ne s'insèrent que sur le pétiole et non à la fois sur la tige et sur le pétiole.

De tous les organes glanduleux qui viennent d'être signalés exsude un liquide riche en saccharose; aussi les considère-t-on comme des nectaires extra-floraux.

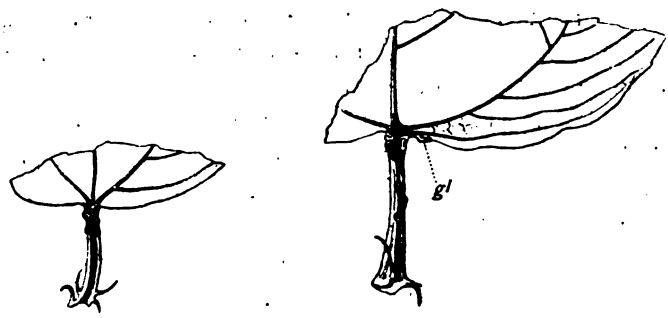


Fig. 19 et 20. — *Viburnum Opulus* : à gauche, feuille avec plusieurs glandes pétiolaires ; à droite, glandes situées sur le pétiole et sur le bord du limbe.

Reinke (3) et Morini (4) ont décrit succinctement les nectaires pétiolaires du *V. Opulus ;* ils ont remarqué qu'ils possèdent une nervure qui va jusque dans l'épithème, et qu'à leur surface il y a quelques stomates.

Reprenant cette étude, j'ai fait quelques observations qui, si minimes qu'elles soient, ne m'ont pas semblé absolument dépourvues d'intérêt, ce qui m'a engagé à les publier.

La feuille, chez le *Viburnum Opulus*, reçoit de la tige trois faisceaux qui ne tardent pas à se réunir pour en former un seul *a*, large, rubanné et arqué en demi-circonférence (fig. 21).

(1) Grenier et Godron : *Flore de France*, T. II, p. 8.
(2) Mathieu : *Flore forestière*, p. 221, 1897.
(3) Reinke : *Sekretionsorg*, in Jahrbucher f. wissenschaftl. Botanik von Dr Pringsheim, p. 151-153, 1876.
(4) Morini : *Nett. estranuz*, in Mem. Accad. Bologna, p. 337-338, 1886.

Digitized by Google

Mais auparavant le faisceau médian émet deux fascicules, et chacun des faisceaux latéraux un seul.

Après avoir tourné sur eux-mêmes de 180°, ces fascicules se soudent deux à deux pour former deux faisceaux qui, après un trajet assez court, viennent se réunir au large faisceau *a*.

Vers le quart inférieur de chacun des deux bords de ce faisceau *a*, on voit se détacher un fascicule qui court parallèlement au-dessus de lui, puis va se perdre dans le limbe.

Les petits appendices filamenteux, surmontés ou non d'une glande, qui s'insèrent à la base du pétiole, reçoivent chacun un petit faisceau libéro-ligneux du faisceau foliaire latéral correspondant, les trois faisceaux ne s'étant pas encore réunis pour en former un seul. Les organes glanduleux les plus rapprochés de la base du pétiole reçoivent aussi un petit faisceau libéro-ligneux, les autres en reçoivent plusieurs, trois, quatre et même davantage; ces faisceaux, comme le montre la figure, se détachant successivement les uns au-dessus des autres des deux fascicules latéro-supérieurs qui longent les cornes du gros faisceau *a*.

Sur la petite dépression qui se remarque au sommet des organes glanduleux, l'épiderme est sans stomates; ses cellules ont les parois très minces, et la cuticule est à peine développée; au-dessous se trouve le tissu nectari-

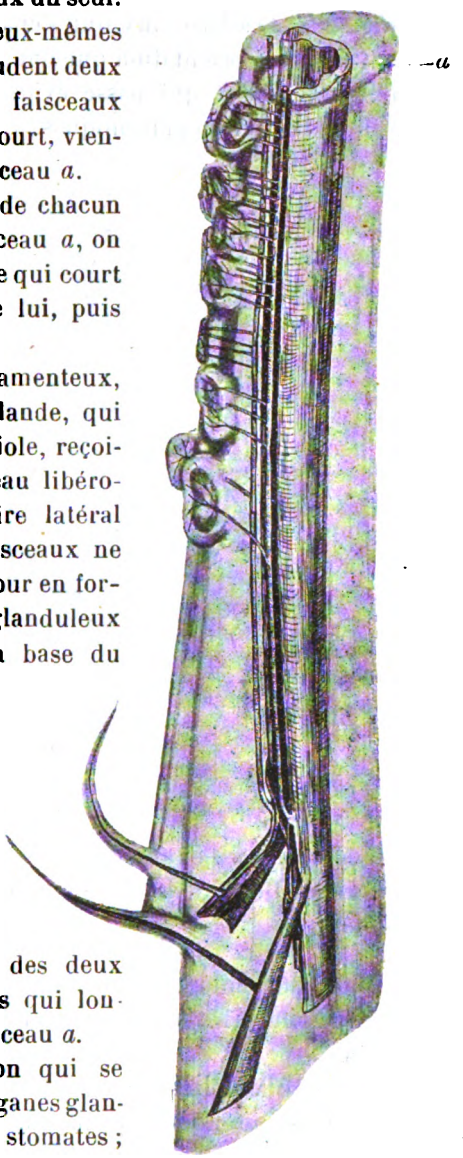


Fig. 21. — Course des faisceaux dans le pétiole du *Viburnum Opulus* (Figure demi-schématique).

Digitized by Google

fère bien reconnaissable avec la liqueur de Fehling ; il est formé de petites cellules à parois minces ne laissant entre elles aucun méat (fig. 22). Les faisceaux qui s'épanouissent au-dessous de ce tissu ont la même orientation que dans le pétiole.

Du liquide sucré, qui passe évidemment à travers les parois amincies des cellules épidermiques, exsude au dehors ; aussi la

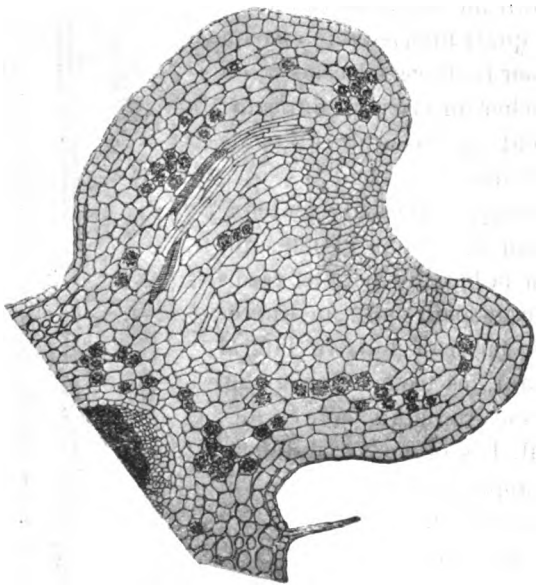


Fig. 22. — Nectaire du *Viburnum Opulus* (coupe transversale).

surface déprimée est-elle toujours recouverte d'une mince couche de matière mielleuse sur laquelle viennent se coller les poussières atmosphériques.

A quoi morphologiquement équivalent les appendices de la base du pétiole et les nectaires? Telle est la question qui se pose maintenant.

Dès 1841 M. Moquin-Tandon parlant des modifications que peuvent subir les organes appendiculaires rapportait ce qui suit : « Enfin le changement en glande est le dernier degré de la transformation qui peut affecter les organes appendiculaires ; c'est l'état le plus rapproché de la disparition complète. Dans cette déviation

Digitized by Google

tout l'organe est réduit à une sorte de corps arrondi plus ou moins petit, plus ou moins dense, ordinairement couvert d'une humeur mielleuse qui transsude de toute sa surface » (1).

En 1879 M. Bonnier écrit : « Toute la feuille peut être transformée en tissu nectarifère chez le *Sambucus Ebulus*. Il en est de même chez le *S. nigra*, d'après M. Poulsen », et encore : « On trouve aussi des nectaires très développés à la place des stipules chez beaucoup d'*Impatiens* (Caspary, Reink) » (2).

Enfin, M. Parmentier étudiant les glandes *exactement* semblables à celles du *V. Opulus* que l'on rencontre sur le pétiole de quelques Amygdalées (*Cerasus avium*, *C. Padus*, *C. vulgaris*, *Prunus brigantiaca* et *P. domestica*), « pense que les renflements pétiolaires des Amygdalées sont des traces de folioles latérales disparues par un phénomène de régression » (3) et dont il ne resterait que la glande terminant la nervure médiane.

M. Parmentier apporte à l'appui de l'opinion courante le fait que ces glandes chez les Amygdalées possèdent un faisceau qui quitterait le faisceau libéro-ligneux du pétiole de la même façon que les faisceaux des folioles latérales dans les feuilles des Rosacées.

De tout ce qui précède il suit que l'on peut considérer les appendices, surmontés ou non d'un petit nectaire, de la base du pétiole comme *représentant morphologiquement des folioles*; théoriquement, la feuille du *V. Opulus* serait donc composée.

De même les nectaires situés plus haut sur le pétiole représenteraient *une partie de la lame verte de la feuille*, partie qui se serait modifiée en vue d'une fonction nouvelle.

Et cette modification serait ici d'autant plus grande que, à l'extrémité de la nervure médiane et des dents du pourtour de la feuille, il n'y a pas comme chez les Amygdalées, par exemple, de petites glandes. Les nervures se terminent sous des stomates aquifères ; entre leur extrémité et l'épiderme sont interposées quelques assises de cellules à parois minces.

Faut-il voir dans ces nectaires la trace d'anciennes folioles

(1) Moquin-Tandon : *Éléments de Tératologie végétale*, 1841, p. 228.

(2) G. Bonnier : *Les nectaires. Étude critique, anatomique et physiologique*, Ann. d. Sc. nat. 6e S., T. VIII, 1879, p. 96 et 98.

(3) Parmentier : *Recherches sur les glandes pétiolaires de quelques Amygdalées*. Assoc. franç. p. l'avanc. d. Sciences, Congrès de Paris, 1900.

Digitized by Google

latérales disparues, ou bien une réduction de la base de la foliole terminale ? J'emploie pour cette discussion le terme de foliole terminale et non de limbe parce que la présence des appendices basilaires oblige à regarder *en principe* la feuille du *V. Opulus* comme étant composée.

Les nectaires ne recevant qu'un seul faisceau peuvent bien être considérés comme des vestiges de folioles latérales, mais pour les autres la question me paraît insoluble et voici pourquoi :

Remarquant que chacun de ces derniers nectaires recevait plusieurs faisceaux se détachant *successivement les uns au-dessus des autres* de l'un des fascicules latéro-supérieurs qui longent les cornes du gros faisceau parcourant le pétiole, j'avais supposé une réduction de la base de la foliole terminale.

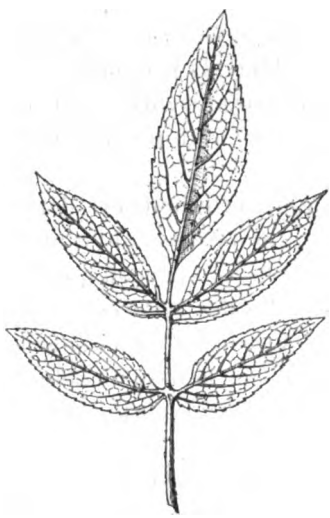


Fig. 23. — Feuille de *Sambucus Ebulus.*

En effet, dans une feuille composée, les faisceaux, s'il y en a plusieurs, qui se rendent dans chaque foliole latérale, sortent du rachis à peu près au même niveau, et ici ce n'est pas le cas.

En outre, la présence assez fréquente de un ou deux nectaires sur le bord de la lame verte (fig. 20, *gl.*), me confirmait dans cette opinion.

Cependant certaines folioles sessiles s'insérant sur le rachis par une large base reçoivent sur toute la longueur de leur insertion des faisceaux qui offrent les uns par rapport aux autres la même disposition que ceux qui se rendent dans les nectaires plurifasciculés du *V. Opulus*.

Précisément dans une espèce appartenant à un genre voisin du genre *Viburnum*, le *Sambucus Ebulus*, les feuilles qui sont composées ont souvent de pareilles folioles (fig. 23).

Par conséquent, rien ne s'opposerait à ce que l'on vît dans ces nectaires du *V. Opulus* les traces d'anciennes folioles latérales

Digitized by Google

disparues, folioles qui, comme l'anatomie l'indique, devaient être *sessiles et s'insérer sur le rachis par une large base.*

Enfin, quand il y a plus de deux nectaires recevant plusieurs faisceaux, les deux suppositions, ci-dessus énoncées, pourraient à la fois être vraies : les nectaires les plus voisins de la foliole terminale ne seraient autre chose qu'une portion modifiée de la base de cette foliole, alors que dans ceux qui se trouvent un peu plus bas on devrait voir les vestiges de folioles latérales ayant dû *avoir la forme* indiquée tout à l'heure.

La conclusion que je crois pouvoir tirer de ces quelques petites observations est la suivante : *Etant donné un organe atrophié ou modifié en vue d'une fonction nouvelle, l'anatomie peut permettre, dans certains cas, de retrouver, au moins en partie sa forme primitive* (1).

(1) Je remercie M. Bott, préparateur à l'Université de Besançon, d'avoir eu l'obligeance de me prêter son talent de dessinateur pour l'exécution des figures, la fig. 5 exceptée.

Institut botanique de l'Université de Besançon.

Digitized by Google

RECHERCHES CYTOLOGIQUES

SUR

LES LEVURES

par M. A. GUILLIERMOND (*Suite*).

(Planches 1 a 9).

III. — SPORULATION

Les phénomènes histologiques de la sporulation sont restés jusqu'ici assez mal connus. Ils présentent cependant un très grand intérêt non seulement par eux-mêmes, mais aussi au point de vue de la classification. Certains botanistes ont, en effet, discuté sur la valeur de l'appareil de fructification des levûres. Brefeld le considérait comme un sporange et Van Tieghem ne lui accordait qu'une faible importance morphologique et l'attribuait à un état pathologique de la cellule.

Les travaux de Bary et Hansen l'ont, au contraire, rapproché des asques des Ascomycètes supérieurs et cette idée tend de plus en plus à prévaloir. Toutefois, il n'y a guère que Raum, Zalewski et Wager qui aient cherché à étudier le développement histologique des spores.

Raum décrit dans les levûres des granules fortement colorables qu'il désigne sous le nom de grains sporogènes. Il montre que les spores naissent de leur fusion.

Zalewsky a suivi très soigneusement en gouttelette pendante, la formation des spores du *Saccharomyces ellipsoideus*. Il décrit d'abord une vacuolisation du cytoplasme, puis une fusion de vacuoles qui aboutit à la formation d'une énorme vacuole occupant toute la cellule : le cytoplasme est réduit à une mince couche pariétale; il s'épaissit à certains endroits et donne naissance aux spores.

Wager observe une vacuolisation du cytoplasme : les granules contenues dans sa *vacuole nucléaire* se concentrent autour du

Digitized by Google

nucléole dans lequel se condense tout le noyau. La division du noyau se fait par un mode qui rappelle les karyokinèses ; le cytoplasme se concentre autour de chaque noyau pour former les spores.

I. *S. Ludwigii.* — Pour étudier la sporulation, nous choisirons comme type le *S. Ludwigii*, qui est très favorable à ces observations. Cette levûre sporule facilement sur carotte : elle s'y multiplie assez abondamment les 2 ou 3 premiers jours après l'ensemencement ; puis le développement s'arrête et le plus grand nombre des cellules donne lieu à la formation de spores.

Les cellules contiennent, dès le début du développement, un noyau sous forme d'une petite masse d'aspect souvent homogène, placé au centre et accolé à une vacuole renfermant des corpuscules métachromatiques (Pl. 4. fig, 44 à 47 ; Pl. 9, fig. 26 et 27). Au cours du développement, on voit apparaître à chacun des deux pôles de la cellule, une vacuole remplie de glycogène (Pl. 9, fig. 28). C'est alors que débutent les phénomènes cytologiques qui aboutissent à la formation des spores.

a) *Phénomènes cytoplasmiques.* — Les vacuoles se divisent en un grand nombre de plus petites et donnent au cytoplasme un aspect vacuolaire, ressemblant beaucoup aux structures alvéolaires décrites par Bütschli dans les Bactéries. Chacune des vacuoles, en se divisant, conserve son contenu, de telle sorte qu'on distingue encore des vacuoles à corpuscules métachromatiques et des vacuoles à glycogène. Celles-ci occupent ordinairement les deux pôles de la cellule ; les vacuoles à corpuscules restent localisées au centre ou sur un des côtés de la cellule ; elles contiennent une quantité considérable de corpuscules métachromatiques, condition qui paraît nécessaire à la formation des spores (Pl. 9, fig. 29 et 30).

Le noyau s'aperçoit difficilement, il ne se différencie guère qu'au moyen de l'hématoxyline au fer. Il est situé, soit au centre de la cellule, soit plus souvent contre un des côtés de la membrane (Pl. 4, fig. 48) ; il est presque toujours en intime contact avec les vacuoles à corpuscules métachromatiques et souvent entouré de corpuscules qui gênent sa différenciation.

b) *Dissolution des corpuscules métachromatiques.* — A un stade plus avancé, apparaît un phénomène très curieux, qui est de nature à nous renseigner sur le rôle des corpuscules métachromatiques.

Digitized by Google

Ces corpuscules qui, jusqu'à ce moment, avaient conservé des dimensions variables et dont quelques-uns étaient très gros, diminuent peu à peu de taille et de nombre ; ils n'apparaissent plus bientôt que sous forme de petites ponctuations localisées aux bords des vacuoles qui alors *prennent une coloration uniformément rouge* avec toutes les matières colorantes qui donnent aux corpuscules leur teinte spécifique (hémalun, violet de gentiane). Avec le vert de méthyle, les vacuoles peuvent même se colorer en rose violet. Mais les meilleures préparations sont obtenues à l'aide du bleu de méthylène et surtout du bleu polychrome : avec le bleu de méthylène les corpuscules apparaissent en bleu violacé et le contenu des vacuoles se colore uniformément en rouge pâle, tandis que, avec le bleu polychrome, les corpuscules se teignent en rouge vif et le contenu des vacuoles en rouge clair (Pl. 9, fig. 31 à 35).

Une telle coloration, qui correspond avec une disparition des corpuscules métachromatiques, ne peut s'expliquer que par une sorte de dissolution de ces corpuscules dans l'intérieur des vacuoles. La présence d'un contenu acide dans les vacuoles n'expliquerait rien, car si certaines matières colorantes telles que l'hémalun se montrent très sensibles à l'action des acides, le bleu de méthylène est incapable de virer au rouge, par quelque acide qu'on le traite. D'autre part, cette coloration rouge se montre toujours avec la plus grande netteté et ne subit pas la moindre variation de nuance, lorsqu'on l'observe au microscope en faisant varier le point : elle ne peut donc pas être attribuée à un phénomène de diffraction. Ces phénomènes ont paru échapper, jusqu'ici, à l'observation des auteurs ; ils jettent un jour nouveau sur les questions des corpuscules métachromatiques.

c) *Division nucléaire.* — C'est à ce stade que commence la division nucléaire. Le noyau devient alors très facile à mettre en évidence, une grande partie des corpuscules métachromatiques qui le masquaient ayant disparu ; il fixe les diverses matières colorantes (hémalun, violet de gentiane et même le bleu de méthylène) ; il s'entoure bientôt d'une zone plasmique naissant par un épaississement et une condensation des mailles cytoplasmiques autour de lui ; cette zone plasmique se colore assez vivement : nous la désignerons sous le nom de *plasme sporogène* (Pl. 4, fig. 49 ; Pl. 5,

Digitized by Google

fig. 36, 37 et 39 ; Pl. 9, fig. 36). Le noyau commence par se diviser en deux petites masses ayant parfois un contour un peu irrégulier et placées très près l'une de l'autre (Pl. 5, fig. 14, 15, 16, 18, 22, 23, 38, 40, 41 ; Pl. 9, fig. 37) ; dans la suite, ces deux masses nucléaires s'écartent et vont se placer aux deux pôles de la cellule, entourées chacune d'une zone de plasme sporogène et reliées l'une à l'autre par un mince trabécule plasmique qui traverse la cellule soit à son milieu, soit sur un de ses côtés latéraux (Pl. 5, fig. 7, 17, 19, 20, 24; Pl. 9, fig. 38 et 39). Bientôt après, les deux noyaux ainsi formés subissent chacun une seconde division et se partagent en deux noyaux qui restent entourés d'une même gaine de plasme sporogène (Pl. 5, fig. 21, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 ; Pl. 9, fig. 40). C'est ordinairement à ce nombre que s'arrête la division, le chiffre typique des spores dans le *S. Ludwigii* étant de quatre. Le trabécule, qui unissait les deux noyaux provenant de la première division s'amincit progressivement, puis vient se réunir aux deux masses polaires de plasme sporogène, en se brisant à son milieu. Parfois, cependant, il subsiste plus longtemps et même après le début de la formation des spores (Pl. 5, fig. 8, 9, 10, 11, 12 et 13).

A ce moment, les cellules sont constituées de deux masses de plasme sporogène contenant chacune deux noyaux et situées aux deux pôles (Pl. 5, fig. 32 et 33) ; tout le reste de la cellule est vacuolaire ; les mailles du cytoplasme limitant les vacuoles étant devenues très ténues par suite de la concentration du plasme sporogène autour des noyaux et se colorant moins fortement que ce dernier, on comprend que Zalewsky ait pu décrire une fusion des vacuoles au moment de la formation des spores. Il reste quelques corpuscules métachromatiques qui se placent ordinairement autour des deux masses de plasme sporogène et qui entoureront les spores lorsqu'elles seront nées, ce qui peut donner l'impression que ce plasme est formé de la concentration et de la fusion de ces corpuscules, comme Raum avait cru le remarquer.

Dans les préparations colorées à l'hémalun, les mailles cytoplasmiques se colorent en bleu pâle et se laissent bien distinguer (Pl. 5, fig. 36 à 41), le plasme sporogène en bleu foncé, les noyaux se montrent avec une teinte légèrement plus sombre. Les vacuoles à corpuscules métachromatiques sont uniformément rouge pâle. Le bleu de méthylène colore faiblement le cytoplasme et différencie le

Digitized by Google

plasme sporogène en bleu et les noyaux en bleu foncé (Pl. 9, fig. 35 à 40). Les vacuoles ressortent avec une belle couleur rouge pâle. L'hématoxyline de Heidenhain colore le plasme sporogène en gris et les noyaux en noir intense, les mailles du cytoplasme se différencient à peine ou pas du tout : dans les préparations insuffisamment décolorées, les mailles du cytoplasme apparaissent au contraire très nettement, avec une teinte gris foncé, et le plasme sporogène prend une couleur noire qui ne laisse que rarement distinguer les noyaux (Pl. 4, fig. 49 et 50 ; Pl. 5, fig. 1 à 6). Nous avons essayé un grand nombre d'autres colorants, mais aucun ne nous a donné d'aussi bons résultats que ces derniers. Dans aucun cas, nous n'avons pu obtenir des préparations qui nous renseignent suffisamment sur le mode suivant lequel s'effectuent ces divisions nucléaires.

Un certain nombre d'auteurs (Buscalioni, Janssens et Leblanc, Wager) ont considéré l'ensemble de ce que nous avons désigné sous le nom de plasme sporogène et du noyau en voie de division comme appartenant à la division nucléaire et se rattachant à des figures karyokinétiques. Le trabécule, qui traverse la cellule et relie les deux noyaux serait un fuseau achromatique, et les deux noyaux de la première division constitueraient les deux masses chromatiques dont on ne distinguerait pas les chromosomes. C'est l'impression que donnent les préparations à l'hémalun ou à l'hématoxyline de Heidenhain qui ont été mal décolorées ; mais lorsqu'on étudie avec soin la formation des spores, on remarque que ce sont les deux masses de plasme entourant les noyaux qui sont destinés à constituer le cytoplasme des spores. En outre, le trabécule plasmique peut subsister même après la formation des spores et, lorsqu'on l'étudie avec soin, on voit qu'il est souvent irrégulier et qu'il se rattache par de fines travées aux mailles du cytoplasme, ce qui probablement avait fait décrire à tort à Janssens et Leblanc une plaque équatoriale. Enfin ces figures paraissent très grosses par rapport à la faible dimension des spores et à l'extrême petitesse de leur noyau.

Cet ensemble de raisons nous a fait penser que le plasme qui entoure les noyaux et les relie l'un à l'autre ne représente autre chose que le cytoplasme destiné à la formation des spores, qui se rassemblerait autour du noyau et se diviserait avec lui. Toutefois il

Digitized by Google

offre dans quelques cas, une vague apparence de striations et il ne serait pas impossible qu'il existe en même temps un fuseau achromatique plus ou moins confondu avec ce plasme sporogène. Certains aspects des deux masses nucléaires au moment où elles viennent de se partager pourraient être favorables à l'hypothèse d'une division voisine de la karyokinèse (Pl. 5, fig. 28).

d) *Formation des spores.* — La formation des spores commence aussitôt après la seconde division nucléaire. Les cellules contiennent alors deux masses polaires de plasme sporogène renfermant chacune deux noyaux très rapprochés l'un de l'autre (Pl. 5, fig. 32 et 33). Les premières ébauches des spores apparaissent chacune par une délimitation d'une petite boule plasmique dont le noyau occupe l'un des pôles. A l'opposé il n'y a pas de limite arrêtée. Toute la partie qui se trouve à côté du noyau prend alors un contour régulier et une teinte beaucoup plus sombre ; le contour de la partie opposée au noyau présente au contraire un aspect clair et plus ou moins dentelé. Les ébauches des spores ont ainsi la forme de petites calottes (Pl. 5, fig. 8 à 13, 26, 32, 34 et 35 ; Pl. 9, fig. 41). Ces figures sont peut-être dues à la formation d'une membrane plasmique naissant autour du noyau et cette disposition pourrait rappeler les figures décrites par Harper pour les Ascomycètes chez lesquels le kinoplasme entoure la spore d'une fine membrane qui ne se ferme que tardivement à l'extrémité opposée au noyau.

Les spores prennent ensuite un contour régulier d'un bout à l'autre, deviennent sphériques et s'enveloppent peu à peu d'une zone claire à laquelle se substitue une membrane cellulosique ; de très petites qu'elles sont d'abord, elles se gonflent, refoulent le cytoplasme non utilisé et les vacuoles qui les entourent dont le reste des corpuscules métachromatiques semblent parfois se grouper autour d'elles et tapisser leurs parois. Mais cet épiplasme ne tarde pas à se désorganiser : les mailles cytoplasmiques disparaissent et il ne subsiste plus qu'un liquide contenant en suspension une forte proportion de glycogène et la substance qui se colore uniformément en rouge, provenant de la dissolution des corpuscules métachromatiques ; ces substances diminuent à mesure que les spores se développent et, au moment de leur maturité, celles-ci occupent toute la cellule, ayant complètement absorbé l'épiplasme.

Digitized by Google

La spore, une fois constituée, est formée d'un petit noyau accolé à la membrane (Pl. 5, fig. 42), d'où partent un certain nombre de radiations cytoplasmiques délimitant de petites vacuoles remplies de glycogène. Le cytoplasme renferme quelques corpuscules métachromatiques (Pl. 9, fig. 42 à 45). Ce glycogène et ces corpuscules augmentent au fur et à mesure que l'épiplasme est absorbé.

II. *Autres levûres.* — Les autres levûres que nous avons observées présentent des phénomènes analogues avec quelques différences de détails et partout on constate une dissolution des corpuscules métachromatiques et leur absorption par les spores (Pl. 9, fig. 46 à 58).

La division du noyau est plus difficile à observer, elle s'effectue souvent dans une masse de plasme sporogène située vers le milieu de la cellule. Les spores naissent souvent aussi au centre de la cellule et dans des espaces très rapprochés (Pl. 3, fig. 21 à 35 ; Pl. 4, fig. 4 à 8, 15 à 21, 36 à 38 et 42 et 43).

Ainsi, il ressort de ce que nous venons de voir, qu'au moment de la sporulation, il semble s'effectuer une sorte de *dissolution des corpuscules métachromatiques qui sont absorbés par les spores* et paraissent jouer le rôle de *matériaux de réserve.* Déjà Raum et Ernst leur avaient attribué un grand rôle dans la sporulation des levûres et des Bactéries. Nos observations confirment ces faits. Enfin l'ensemble des phénomènes de sporulation paraît présenter une certaine analogie, tant par la formation des spores que par la constitution de l'épiplasme avec ce que l'on a observé chez les Ascomycètes supérieurs.

III. — *Germination des spores.* — La germination des spores ne présente pas d'intérêt spécial : les spores germent en bourgeonnant à la façon des cellules végétatives (Pl. 3, fig. 36 à 40 ; Pl. 4, fig. 22 à 25). Le glycogène disparaît généralement un peu avant ou au moment de la formation des bourgeons; au contraire les corpuscules métachromatiques subsistent et paraissent augmenter de nombre pendant la germination.

Hansen avait constaté dans le *S. Ludwigii* un mode de germination différent de celui des autres levûres : les spores, au lieu d'émettre plusieurs bourgeons dans des endroits quelconques comme dans les autres levûres, germent toujours sur un même

Digitized by Google

point en produisant une sorte de formation intermédiaire, de tube germinatif (*promycélium*) qui, ayant atteint une certaine longueur, se sectionne par formation de cloisons médianes et donne naissance aux nouvelles cellules. En outre, cette germination est presque toujours précédée d'une fusion des spores deux à deux.

Nous avons voulu essayer de nous rendre compte de la manière dont se comportait le noyau pendant ces fusions, afin de savoir s'il s'agissait de simples anastomoses telles qu'on en rencontre si souvent chez les Champignons ou si ce phénomène avait une signification sexuelle. Malheureusement nous n'avons jamais observé de fusions et toujours nous avons vu les spores produire isolément leur promycelium (Pl. 5, fig. 43 à 48). Depuis, M. le professeur Hansen a eu l'obligeance de nous envoyer des cultures de *S. Ludwigii* dans lesquelles nous avons pu retrouver ces phénomènes de fusions qui s'effectuaient presque constamment au moment de la germination. Il faut donc admettre que le *S. Ludwigii* que nous avons étudié, constituait une variété spéciale ayant perdu cette propriété.

V. — PHÉNOMÈNES SEXUELS

Janssens et Leblanc avaient cru remarquer, un peu avant la formation des spores, que le noyau de chaque cellule destinée à sporuler se dédoublait en deux noyaux, puis qu'après être restés quelque temps séparés, ces deux noyaux se fusionnaient : ils considéraient cette fusion comme un acte sexuel rudimentaire analogue aux phénomènes décrits par Dangeard et Sappin-Trouffy chez les Ascomycètes et les Basidiomycètes.

Wager a montré que cette observation était erronée et provenait d'une fausse interprétation. Nous avons suivi avec la plus grande attention les phénomènes histologiques qui précèdent la sporulation et de même que cet auteur nous n'avons jamais constaté ce dédoublement suivi de refusion du noyau (1).

Par contre nous avons observé des phénomènes d'isogamie chez les Schizosaccharomycètes.

(1) Barker est revenu depuis sur cette question et bien qu'il n'ait communiqué ses premiers résultats qu'avec une extrême réserve, il paraît néanmoins avoir une tendance à admettre que la formation de l'asque est précédée d'une fusion nucléaire, mais il a probablement confondu les corpuscules métachromatiques avec le noyau.

Digitized by Google

Les Schizosaccharomycètes constituent un groupe spécial de levûres habitant les pays chauds et encore peu connues. Ils se distinguent de toutes les autres levûres par leur mode de multiplication qui s'effectue par formation de cloisons médianes et non par bourgeonnement. On n'en connaît jusqu'ici que quatre espèces : *Sch. Pombe*, découvert le premier en 1890 par Lindner, *Sch. octosporus* (Beyerinck), *Sch. Mellacei* (Jörgensen), *Sch. asporus* (Eyckmann). Nous laisserons la dernière qui, par son absence de spores, ne nous offre aucun intérêt, et nous étudierons successivement les trois premières.

A. Sch. octosporus. — Nous commencerons par cette levûre : elle est la mieux connue des *Schizosaccharomyces* et celle qui est la plus commode à étudier. C'est une levûre de dimension assez élevée, à cellules généralement sphériques, quelquefois allongées en bâtonnet. Beyerinck a montré qu'on pouvait isoler de cette levûre une *race asporogène* qui ne sporule jamais et une *race sporogène* dont toutes les cellules forment ordinairement des spores. Il obtint cette dernière par une exposition prolongée des cellules de cette levûre à une température de 56° : cette température suffit à tuer les cellules végétatives, seules les spores résistent. Ces races existent dans la nature à l'état de mélange. Les asques contiennent toujours huit spores, d'après Beyerinck.

a) *Conjugaison.* — Schiönning (1895) a publié des observations sur le mode de formation des asques qui, suivant cet auteur, serait précédée de la fusion de deux cellules : la cellule destinée à produire l'asque se diviserait en deux filles, qui sans se séparer complètement resteraient accolées l'une à l'autre. Au bout d'un certain temps, la cloison se résorberait et les deux cellules se refusionneraient ; la cellule résultant de cette fusion deviendrait la cellule mère de l'asque. Malheureusement, l'auteur n'ayant pas étudié le noyau, n'a pas pu donner d'interprétation à ce phénomène.

Plus récemment, Hoffmeister (1900), dans une courte note sur le noyau des levûres, a constaté, en passant, que les deux cellules destinées à se fusionner contenaient chacune un granule colorable qui représente peut-être le noyau, et que la cellule mère de l'asque n'en renferme qu'un seul. Malgré cela, la question ne paraissait pas résolue.

Digitized by Google

Nous avons pensé qu'il serait utile de reprendre cette étude. Nous avons d'abord vérifié les observations de Schiönning. Pour cela, nous placions quelques cellules d'une race sporogène de *Sch. octosporus*, sur une cellule Van Tieghem. Nous nous servions comme milieu de culture de jus de raisin additionné de 8 p. 100 de gélatine,

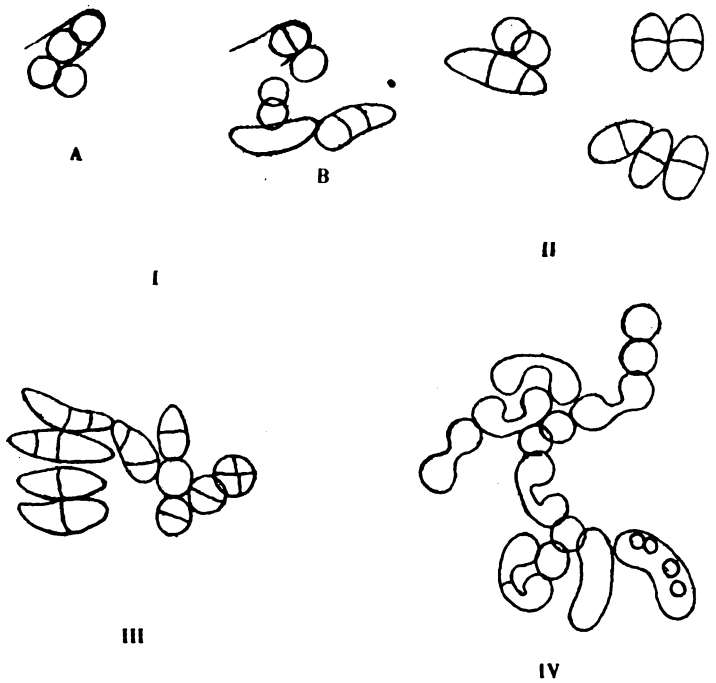


Fig. 24. — *Développement des cellules de race sporogène en culture sur cellule* Van Tieghem. — I, Germination des spores : A, Asque à quatre spores, la paroi n'est pas complètement déchirée (6 h. du soir) ; B, Cloisonnement des spores (9 h. du matin) ; II et III, Multiplication des cellules ; IV. Phénomènes de conjugaison et formation des asques (Grossissement environ 700).

des expériences préalables nous ayant montré ce substratum comme très favorable à la production des asques. Nous fixions l'objectif de notre microscope sur un point de la gouttelette pendante qui contenait quelques cellules et nous laissions ainsi le microscope pendant vingt-quatre heures en surveillant les modifications qui se produisaient. Ces observations étaient faites l'été et la

Digitized by Google

température du laboratoire oscillant entre 25 et 30° était particulièrement favorable.

Observons donc ce qui se produit dans un groupe de cellules placées dans ces conditions. Si l'on a fixé l'objectif sur un endroit contenant des asques, on voit d'abord les spores se gonfler ; la membrane de l'asque se déchire ordinairement avant la germination des spores et celles-ci se trouvent libres. Elles prennent l'aspect de cellules végétatives et se coupent chacune par formation de cloisons médianes (fig. 24, A et B) en deux cellules filles qui, à leur tour, continuent à se multiplier de la même façon. Souvent elles s'allongent en petits bâtonnets qui se cloisonnent plusieurs fois sans se séparer (fig. 24, I, B, II, III). Quelquefois, elles se divisent par une cloison médiane en deux filles qui, sans se détacher, fournissent chacune une nouvelle cloison perpendiculaire à la première, donnant ainsi quatre cellules coupées suivant leurs deux diamètres (fig. 24, III).

Cette multiplication est assez active pendant les deux premiers jours ; vers le troisième, sans s'arrêter complètement, elle commence à se ralentir beaucoup ; c'est à ce moment que débutent les phénomènes de sporulation : les cellules s'arrondissent, mais restent le plus souvent réunies par groupes, adhérentes par leurs membranes, formant ainsi de petites colonies isolées les unes des autres ; la plupart des cellules commencent alors à se réunir deux à deux par la formation d'un canal de communication et au bout de trois ou quatre jours presque toutes les cellules se sont transformées en asques (fig. 24, IV).

Sur les bords des colonies, on trouve toujours de petits groupes de deux ou trois cellules isolées des autres qui permettent de suivre d'une manière très précise les phénomènes de fusion et la formation des spores. Deux cellules restées accolées l'une à l'autre se refusionnent (fig. 25, B.). Cette fusion s'établit parfois très simplement, comme l'a indiqué Schiönning, par la dissolution de la cloison, mais le plus souvent elle s'effectue par la formation de deux petites protubérances qui se rejoignent (fig. 25, C), se soudent l'une à l'autre et établissent un canal de communication qui relie les deux cellules ; puis la paroi de séparation disparaît, le canal s'élargit (fig. 25, D) et la cellule ainsi formée par la soudure de deux individus devient peu à peu ovale (fig. 25, E) et l'on y voit

Digitized by Google

naître les spores dans l'espace d'une demi-heure, sous forme de petites boules brillantes (fig. 25, F). Très souvent cependant, la fusion n'est pas complète et il reste dans la forme extérieure de l'asque des traces de l'individualité des deux cellules, soit qu'il y ait persistance du canal de communication, soit qu'il y subsiste simplement un léger rétrécissement médian. Ces phénomènes s'accomplissent assez rapidement et nous avons pu suivre en vingt-quatre heures le développement complet d'un asque.

Cette fusion de deux cellules, qui correspond, comme nous le verrons, à une véritable conjugaison isogamique, paraît s'établir

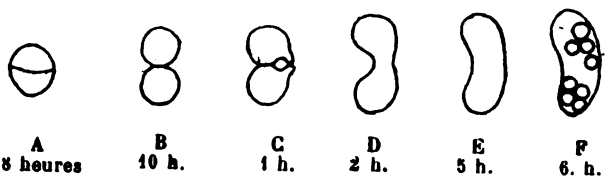


Fig. 25. — Stades successifs de la formation de l'asque (entre deux cellules sœurs).

très souvent entre deux cellules issues d'une même bipartition : les *deux gamètes sont donc frères*. Cela s'observe très nettement lorsque l'on examine un très petit groupe de cellules dont on a pu suivre exactement le cloisonnement ; même il peut se faire que l'une des cellules d'une colonie s'isole, se cloisonne une seule fois et que la conjugaison s'opère entre les deux éléments ainsi formés ce qui permet d'apporter une grande précision dans cette étude (fig. 25). Il ne faudrait cependant pas considérer comme nécessaire que les deux gamètes soient frères. Outre que bien souvent, il est impossible de définir la parenté qui relie les deux gamètes, il existe des cas où l'on est certain de n'avoir pas affaire à deux gamètes provenant d'une même bipartition. C'est ainsi que l'on constate parfois une division d'une seule ou même de deux gamètes avant la résorption de la cloison séparatrice du canal de communication ; alors les deux gamètes séparés par une génération ont perdu leur caractère de frères (fig. 26, B). Enfin, dans certaines cultures ayant une tendance à devenir asporogènes, on verra que les asques naissent ordinairement de la fusion de deux cellules de parenté plus ou moins éloignée.

Digitized by Google

Quoi qu'il en soit, cette isogamie nous offre un caractère qui n'a pas été observé jusqu'ici ; elle nous montre qu'il peut exister des actes sexuels entre deux éléments issus d'une même génération.

Les exemples qui nous ont été donnés par les Protozoaires nous avaient plutôt habitué à rencontrer des conjugaisons entre des individus d'une parenté très éloignée (Maupas). On connaît bien chez les Algues et certains Champignons des exemples de conjugaisons s'accomplissant entre deux cellules contiguës d'un même filament, mais en ce cas, bien que les deux gamètes soient évidemment très proches parents, rien ne prouve qu'ils soient frères. Toutefois R. Hertwig a décrit récemment chez un Rhizopode, l'*Actinosphærium* un phénomène assez voisin de celui que nous venons d'observer et où les deux gamètes ne sont séparés que par une génération (1).

On n'observe que très exceptionnellement des cellules capables de se transformer directement en asques sans avoir préalablement subi de conjugaison. Il existe quelques cas plus fréquents, où les deux gamètes étant sur le point de s'unir, donnent lieu chacun à la formation de quatre spores, sans que la paroi de séparation se résorbe (fig. 26, A). Ces phénomènes d'*apogamie* sont à rapprocher de ceux qu'on a souvent observés dans les Murorinées (Van Tieghem, Le Monnier, Léger) et dans les *Mesocarpus*.

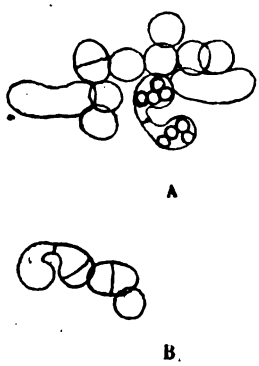


Fig. 26. — A, asques apogames ; B, fusion se produisant entre deux cellules ne provenant pas de la même génération par suite du cloisonnement de l'une d'elles.

Nous avons constaté en outre des phénomènes très curieux que nous attribuons à la tendance que les cellules de race sporogène placées dans de certaines conditions manifestent à se transformer en race asporogène. Nous avons, en effet, remarqué que presque toutes les cellules cultivées dans les milieux liquides (jus de raisin, jus de carotte) devenaient très rapidement asporogènes : au bout de

(1) Depuis les premières publications de nos résultats, Schaudinn a cru observer dans le *Bacillus Butschlii* de très curieux phénomènes d'isogamie précédant la sporulation qui s'accompliraient toujours entre deux cellules sœurs.

Digitized by Google

huit jours après l'ensemencement sur gouttelette pendante, la culture était remplie d'un très grand nombre de cellules végétatives qui formaient de petites colonies isolées les unes des autres et ne contenait que quelques asques exceptionnels. On observait, quel-

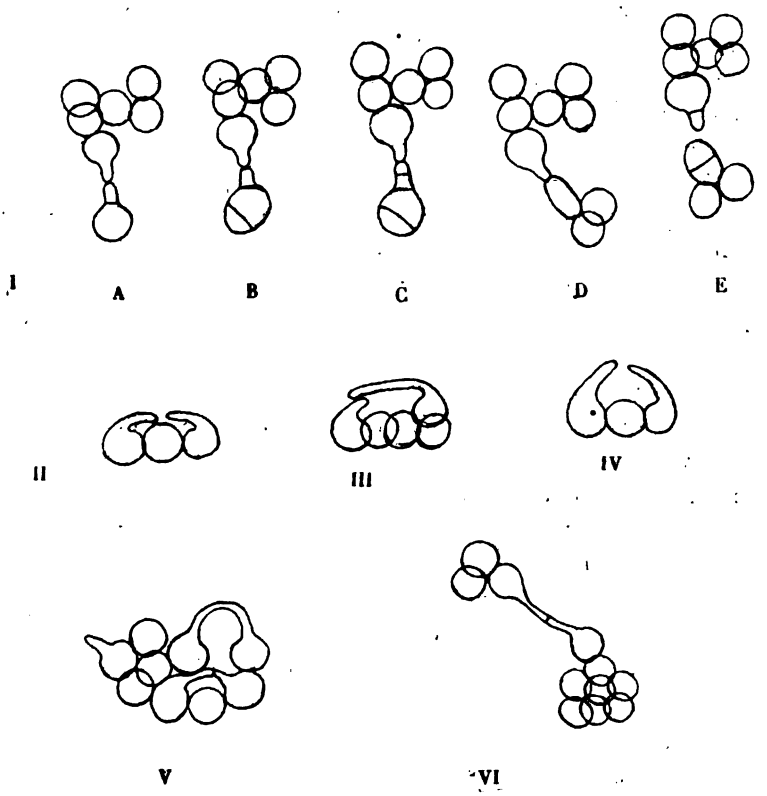


Fig. 27. — Essai de conjugaison arrêté dans son développement et suivi de cloisonnement des deux cellules qui se préparaient à s'unir. — Le développement de ces cellules a été suivi heure par heure. I : A, 11 h. (matin) ; B, 1 h. (soir) : C, 2 h. (soir) ; D, 6 h. (soir) ; E, 8 h. (matin). — II, III, IV, V : Cellules manifestant une tendance à devenir asporogènes. (Essais de conjugaison entre cellules éloignées les unes des autres). — VI, Fusion s'effectuant entre deux cellules n'appartenant pas à une même colonie.

quefois dans ces conditions, deux cellules d'une même colonie, mais isolées l'une de l'autre par quelques cellules intermédiaires ou même appartenant à deux colonies différentes, voisines l'une de l'autre, n'étant pas par conséquent de parenté immédiate, qui

Digitized by Google

formaient chacune une protubérance (fig. 27, II, III, IV, V, VI). Les deux protubérances s'allongeaient, se rapprochaient l'une de l'autre, se rencontraient parfois ou se croisaient. Quelquefois, elles arrivaient à se fusionner et à produire un asque, mais le plus souvent, leur tentative de fusion échouait, et les deux cellules et leur protubérance aboutissaient à un cloisonnement devenant le siège d'une abondante multiplication (fig. 27, I). Enfin, dans beaucoup de cas, certaines cellules d'une même colonie étaient capables d'émettre des protubérances qui, très éloignées les unes des autres, se dirigeaient dans un sens quelconque, sans jamais parvenir à se rencontrer, puis finissaient par se cloisonner, ressemblant à des tubes de germination.

Ces formations singulières, qui n'apparaissaient qu'au moment où les individus devenaient asporogènes, ne paraissaient pouvoir s'expliquer que par une perte de la faculté de sporuler que subiraient la plupart des cellules placées dans de telles conditions. Seules certaines cellules conserveraient leurs propriétés sporogènes, mais se trouvant isolées les unes des autres, produiraient des protubérances, essaieraient de se joindre et de se souder, en n'y parvenant que rarement par suite de l'éloignement qui les sépare. Il semble donc exister, au moment où la race devient asporogène, une série d'essais de conjugaisons presque toujours infructueux, qui se manifestent par l'apparition de formes bizarres.

Dans les milieux impropres à la sporulation du Champignon, on observait également des cellules sur le point de se conjuguer, mais entravées dans leur développement ; on voyait souvent deux gamètes frères réunis par un canal de communication, se cloisonnant chacun et renonçant à leur fusion (fig. 27, I). Cela se rencontrait fréquemment dans les cellules retardataires qui se conjuguaient au moment où le phénomène était déjà accompli chez la plupart des autres et où les conditions du milieu devenaient défavorables.

b) *Fusion nucléaire.* — Etudions maintenant ce qui se produit dans l'intérieur de la cellule pendant la fusion.

Le *Sch. ostosporus* possède un noyau formé d'un karyosome entouré d'une zone incolore de nucléoplasme qui laisse parfois apparaître des traces d'une membrane délimitante (Pl. 6, fig. 1 à 4). Ce noyau se trouve dans le voisinage de petites vacuoles ou d'une

Digitized by Google

seule grosse vacuole contenant quelques corpuscules métachromatiques. La division de ce noyau s'effectue par le procédé que nous avons rencontré chez les moisissures et chez certaines levûres, par scission transversale du karyosome.

Les deux cellules destinées à s'unir pour former l'asque possèdent chacune une grosse vacuole et un noyau généralement placé tout près de la cloison séparatrice ou à la pointe de la petite protubérance par où va se produire la fusion. Au moment où la membrane disparaît, les deux noyaux se fusionnent et l'on trouve une série de stades où les deux cellules sont unies par un canal de communication, fermé à son milieu par une cloison, et où les noyaux occupent le voisinage de la cloison, et d'autres dans lesquels la cloison s'est résorbée et où il n'existe qu'un seul noyau (Pl. 6, fig. 5 à 26 ; Pl. 9, fig. 23 à 25). Il y a donc véritablement *fusion des deux noyaux* ; dans quelques cas même on rencontre des cellules chez lesquelles se trouve un seul noyau placé au milieu du canal de communication, ayant une forme allongée qui paraît indiquer une phase de fusion nucléaire (Pl. 6, fig. 17). Cependant, on n'observe ordinairement aucune différence de dimension entre les noyaux primitifs et le noyau unique résultant de leur fusion, soit qu'il y ait contraction de la substance nucléaire au moment de la fusion, soit que la faible dimension du noyau ne permette pas d'apprécier de différence de volume. Dans les cas où il subsiste des traces de l'individualité des deux cellules par persistance du canal de communication, on ne peut distinguer les stades où, la cloison étant dissoute, les noyaux se préparent à se fusionner, de ceux dans lesquels s'effectue la première division de ce noyau (Pl. 6, fig. 12 à 16).

c) *Division du noyau et formation des spores.* — La fusion nucléaire opérée, le noyau unique ne tarde pas à se diviser de nouveau en deux noyaux qui vont à leur tour se partager et se disséminer dans différents endroits de la cellule pour y former les spores. Cette division s'effectue suivant le même mode que dans les cellules végétatives (Pl. 6, fig. 27 à 33) et s'observe facilement.

Pendant ce temps, le cytoplasme a subi un certain nombre de modifications. Les deux vacuoles provenant des deux gamètes restent aux deux pôles de la cellule ascogène, laissant entre elles

Digitized by Google

une portion cytoplasmique très dense qui ne tarde pas à se creuser de petites vacuoles, ce qui donne aux cellules l'aspect vacuolaire que nous avons observé chez les autres levûres en voie de sporuler. Les corpuscules métachromatiques qui sont d'ailleurs en assez petit nombre dans les cellules végétatives, semblent disparaître en partie pendant la fusion et l'on en trouve très peu dans l'épiplasme; il n'existe, d'autre part, aucune trace de glycogène ainsi que l'ont montré les observations Lindner (1).

Les noyaux se disséminent ordinairement dans le cytoplasme médian et aux deux pôles de la cellule, et c'est dans ces parties qu'apparaissent les spores. Elles naissent simplement par une condensation du cytoplasme autour du noyau et n'offrent pas de figures en calotte (Pl. 6, fig. 34 et 35). Le nombre de ces spores est typiquement de huit, mais ce chiffre est loin d'atteindre la constance que lui attribue Beyerinck : on constate souvent sa réduction à quatre (Pl. 6, fig. 36 à 38).

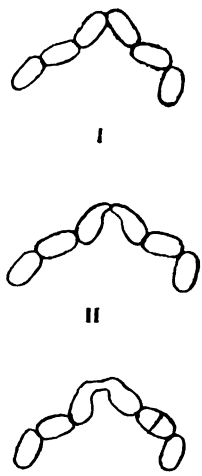


Fig. 28. — Stades de conjugaison suivis en cellule Van Tieghem : I, 9 heures (matin) ; II, 1 h. (soir) ; III, 3 h. (soir).

Il existe donc dans le *Sch. octosporus*, une véritable *conjugaison* qui précède la formation de l'asque, lequel provient de deux cellules qui s'unissent et fusionnent leur noyau et l'on est autorisé à considérer ce phénomène comme un des exemples les plus caractéristiques d'*isogamie*.

B. Schiz. Pombe. — Nous avons observé des phénomènes analogues dans le *Sch. Pombe*. C'est une levûre plus petite que la précédente ; ses cellules sont allongées en petits bâtonnets rectangulaires qui se segmentent pour se diviser et ressemblent beaucoup à des conidies de l'*O. Lactis*.

Elle comprend aussi des races asporogènes et des races sporogènes, la distinction entre les deux races étant toutefois moins accusée que dans le cas précédent. Les asques renferment ordinairement quatre spores.

(1) Les Schizosaccharomycètes ne contiennent jamais de glycogène.

Digitized by Google

a) *Conjugaison.* — Nous avons étudié la formation de ces asques en nous servant des méthodes précédemment décrites : nous avons suivi le développement de quelques cellules de races sporogènes sur gouttelette pendante. On voyait très vite les cellules s'allonger, se cloisonner et former de longs bâtonnets, capables parfois de se renfler latéralement et de produire des rameaux se cloisonnant à leur tour. Chacune des cloisons s'arrondissait, les cellules glissaient l'une sur l'autre, se disposant en files plus ou moins

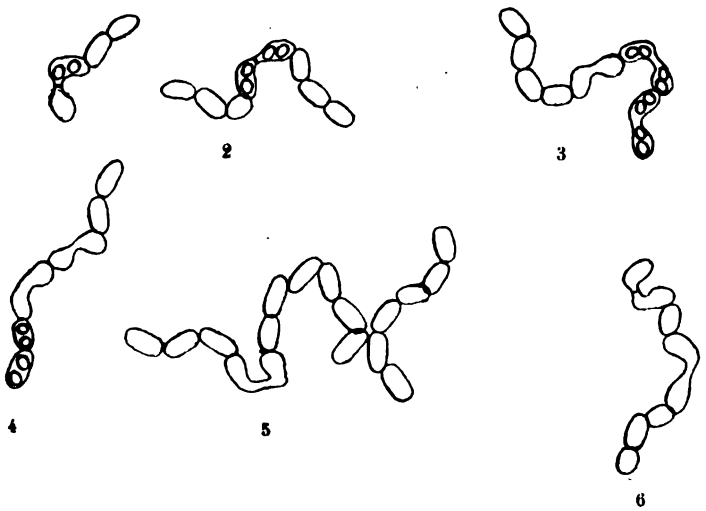


Fig. 29. — Colonies sporogènes examinées en culture sur cellule Van Tieghem et montrant les divers stades de la conjugaison et de la formation des asques.

tortueuses, mais restant toujours légèrement adhérentes par un côté de la membrane (fig. 29). C'est alors qu'on voyait apparaître vers le 2e ou le 3e jour le début de phénomènes de sporulation.

Pour la première fois dans cette levûre, nous observons une conjugaison précédant la sporulation : ce phénomène présente les mêmes caractères que dans le *Sch. octosporus* et nous avons pu nous assurer que l'asque provenait bien ici encore d'une *isogamie*. Deux cellules contiguës d'une même chaîne de cellules (fig. 28, I), souvent sœurs, et légèrement adhérentes l'une à l'autre, émettent une petite protubérance et se conjuguent (fig. 28, II et III), mais ici la fusion est généralement incomplète et les deux cellules conservent presque toujours des traces de leur individualité et de leur position respec-

Digitized by Google

tive d'une façon plus marquée encore que dans la levûre précédente ; l'asque apparaît ordinairement comme formé de deux cellules, placées parfois dans des axes différents, quelquefois même perpendiculaires l'une à l'autre, et unies par un col étranglé qui, primitivement, contenait à sa partie médiane une cloison séparatrice. Cette conjugaison, qui n'avait jamais été entrevue jusqu'ici, explique les formes particulières figurées par Lindner, où les asques ont l'aspect d'un hachoir, chacun des deux manches contenant deux spores.

On observe encore ici quelques cas d'apogamie ; un certain nombre de cellules peuvent se développer directement en asques, et ce cas paraît beaucoup plus fréquent que dans le *Sch. octosporus* (fig. 29, 4). Souvent aussi deux gamètes réunis l'un à l'autre, mais dont la cloison subsiste encore, forment chacun un asque à deux spores sans se fusionner (fig. 29, 2). D'autres fois, l'un d'eux dégénère et l'autre donne naissance soit à deux, soit à quatre spores (fig. 29, 1).

b) *Fusion nucléaire et formation des spores.* — Les phénomènes histologiques qui accompagnent la conjugaison des deux gamètes sont à peu près semblables à ceux que nous avons décrits dans le *Sch. octosporus*.

Les cellules du *Sch. Pombe* contiennent ordinairement deux vacuoles polaires renfermant des corpuscules métachromatiques. L'espace compris entre ces deux vacuoles est rempli d'un cytoplasme très dense dans lequel est placé le noyau.

Au moment de la conjugaison, le noyau de chacune des deux gamètes s'introduit dans le canal de communication qui contient un cytoplasme très dense : les deux noyaux se soudent, puis le noyau résultant de cette fusion se divise bientôt en deux noyaux fils qui émigrent aux deux renflements de la cellule où ils se partagent de nouveau pour former deux spores à chacune des deux extrémités de l'asque (Pl. 7, fig. 9 à 24). Ici encore, ce nombre typique de quatre spores est sujet à quelques variations.

Après la fusion des deux gamètes le cytoplasme de la cellule ascogène a pris un aspect alvéolaire, creusé de petites vacuoles contenant un assez grand nombre de corpuscules métachromatiques qui persistent après la formation des spores dans l'épiplasme et paraissent même s'y dissoudre (Pl. 7, fig. 25, 26 et 27).

Digitized by Google

C. Sch. Mellacei. — Cette levûre étudiée par Jörgensen est très voisine de la précédente. Elle ne s'en distingue guère que par la dimension très légèrement supérieure de ses cellules et sa plus grande facilité à sporuler. Il paraît exister plusieurs types de la même espèce.

Nous en avons examiné deux qui nous avaient été envoyés grâce à la complaisance de M. le professeur Beyerinck. Ces deux types différaient peu l'un de l'autre ; l'un présentait des *phénomènes isogamiques* identiques à ceux que nous venons de décrire dans le *Sch. Pombe*. Deux cellules contiguës se fusionnaient et la cellule provenant de cette fusion conservait toujours deux renflements indiquant le contour primitif des deux gamètes (fig. 30). Les spores, ordinairement au nombre de quatre, se disposaient par deux dans chacun des renflements. Il existait des cas assez fréquents d'apogamie. Les phénomènes histologiques s'opéraient de la même façon que dans les levûres précédentes et l'on remarquait toujours une *fusion nucléaire* (Pl. 7, fig. 32 à 34).

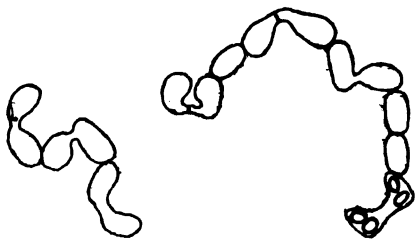


Fig. 30. — Différents stades de la conjugaison et de la formation de l'asque.

Jörgensen avait décrit également pour cette espèce des asques en forme de hachoir ; il avait aussi mentionné dans les vieilles cultures des cellules unies entre elles par un petit canal, mais sans en comprendre la signification et sans remarquer la relation qui existe entre ces cellules et les asques.

La seconde de ces variétés ne subissait jamais de conjugaison et ne produisait que des asques apogames.

D. *Conclusions*. — On voit donc par ces observations qu'il existe dans les trois espèces de Schizosaccharomycètes une véritable conjugaison qui précède la formation de l'asque et qui nous donne un des exemples les mieux caractérisés d'*isogamie* : l'asque a donc la valeur d'une *zygote*.

Ces phénomènes de sexualité nous offrent un intérêt spécial, car c'est la première fois qu'on les constate chez les levûres.

A l'époque où nous avons publié nos premiers résultats

Digitized by Google

sur la sexualité des levûres (22 juillet 1901), Barker (8 juillet 1902) observait des phénomènes d'isogamie précédant la formation de l'asque dans une levûre à multiplication bourgeonnante, se rapprochant par conséquent davantage des levûres ordinaires, découverte par lui dans le gingembre commercial et dont il a fait le genre *Zygosaccharomyces*.

Les descriptions de Barker ressemblent d'une manière surprenante à celles que nous venons de faire, mais l'auteur, ne possédant pas de notions suffisantes sur le noyau des levûres, n'a pas osé se prononcer définitivement sur la fusion nucléaire, bien qu'il attribue à ce phénomène une signification sexuelle.

Nos observations, jointes à celles de Barker, nous montrent donc que les levûres, à l'exemple de beaucoup de microorganismes, sont susceptibles de se reproduire sexuellement, et cette notion présente une très grande importance au moment où la question de la reproduction sexuelle des Ascomycètes est encore très embrouillée. Si ces exemples de sexualité sont rares chez les levûres, il n'est pas impossible qu'on en retrouve de nouveaux. D'autre part, nous avons montré qu'il pouvait se présenter quelquefois dans les Schizosaccharomycètes des phénomènes d'apogamie et que cela était le cas général dans une variété du *Sch. Mellacei* dans laquelle on ne rencontre jamais de conjugaison ; on conçoit dès lors que l'on puisse considérer les levûres ordinaires comme des formes ayant perdu, par suite de circonstances inconnues, toute trace de sexualité et ne se reproduisant plus que parthénogénétiquement. Des exemples de cet ordre se retrouvent fréquemment chez des Algues.

(A suivre).

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX

DE

PALÉONTOLOGIE VÉGÉTALE

PUBLIÉS DANS LE COURS DES ANNÉES 1897-1900

par M. R. ZEILLER (Suite).

Les Cycadofilicinées ont fait l'objet d'une importante série d'observations nouvelles, parmi lesquelles je mentionnerai d'abord celles qui ont trait aux Médullosées, tiges ou pétioles : M. PENHALLOW a fait connaître un nouveau type spécifique de ces pétioles, *Myeloxylon* ou *Myelopteris* (1), provenant du Carbonifère supérieur du Kansas, dans lequel il a observé notamment des canaux sécréteurs de deux sortes, qui paraissent être les uns des canaux à gomme, les autres des canaux à mucilage ; dans l'ensemble cette nouvelle forme lui paraît avoir des affinités plutôt filicoïdes que cycadéennes et rappeler à beaucoup d'égards les pétioles d'*Angiopteris*.

M. le Cte de SOLMS-LAUBACH (2) a fait une étude des principales formes de tiges réunies sous le nom générique de *Medullosa*, et en particulier du *Med. Leuckarti ;* il a confirmé les observations de MM. Weber et Sterzel touchant les pétioles de cette espèce, qui lui ont offert en effet la structure des *Myeloxylon ;* quant aux stèles de la tige, définies comme possédant, à l'intérieur de leur anneau de bois secondaire, une moelle centrale avec faisceaux de bois primaire plus ou moins irrégulièrement répartis, il a émis l'avis que tout ce système central devait être considéré comme un axe primaire à éléments partie trachéens, partie parenchymateux, comparable à celui des *Heterangium*. Il est d'avis que les *Medullosa* doivent constituer un groupe particulier, distinct à la fois des Fougères et des Cycadées.

L'interprétation qu'il a proposée, pour la région centrale de ces stèles de *Medullosa*, a été, d'ailleurs, nettement confirmée par l'étude qu'a pu faire M. SCOTT (3) d'une nouvelle espèce de ce genre, *Med.*

(1) D. P. Penhallow : *Myelopteris Topekensis* n. sp., a new carboniferous plant (*Botan. Gazette*, XXIII, p. 15-30, pl. II, III; 1897).

(2) H. Graf zu Solms-Laubach : Ueber *Medullosa Leuckarti* (*Botan. Zeitung*, 1897, p. 175-202, pl. V, VI).

(3) D. H. Scott : On the structure and affinities of fossil plants from the palaeozoic rocks. III. On *Medullosa anglica*, a new representative of the Cycadofilices (*Phil. Trans. Roy. Soc.*, ser. B, vol. 191, p. 81-126, pl. 5-13; 1899).

Digitized by Google

anglica, trouvée dans le Houiller inférieur du Lancashire. Les stèles de cette espèce, normalement au nombre de trois, affectent en effet chacune la constitution d'une stèle d'*Heterangium*, de telle sorte qu'on pourrait définir ce *Medullosa* comme un *Heterangium* polystélique; elles se bifurquent et s'anastomosent à longs intervalles, et émettent des faisceaux foliaires d'abord pourvus eux-mêmes d'un bois secondaire et d'un liber concentrique, mais bientôt réduits, à leur sortie de l'écorce, à leur bois primaire et divisés en grêles cordons à liber collatéral. La tige est limitée par une zone de périderme et entourée par les bases de larges pétioles à structure de *Myeloxylon Landrioti*, entre lesquelles naissent de nombreuses racines adventives à faisceau central tripolaire entouré d'un bois secondaire centrifuge plus ou moins développé. Ces pétioles ont pu être suivis jusqu'à leurs ramifications, sur lesquelles ont été trouvées fixées des pinnules d'*Alethopteris*. L'auteur regarde les Médullosées comme constituant un groupe allié à la fois aux Cycadées et aux Fougères et sorti sans doute de la souche commune des unes et des autres.

La dépendance, ainsi constatée une fois de plus, entre les *Medullosa* et les *Alethopteris*, donnant un intérêt particulier à la connaissance de l'appareil fructificateur de ce dernier genre, sur lequel on n'a eu jusqu'ici aucun renseignement, il m'a paru utile de signaler (1), malgré l'imperfection de sa conservation, une pinnule isolée d'*Aleth. Serli* du Houiller du Pas-de-Calais qui s'est montrée chargée de granulations, disposées en deux bandes de part et d'autre de la nervure médiane, et affectant l'aspect de sporanges globuleux, mais à structure malheureusement indiscernable; il semble qu'on ait affaire là à une pinnule fertile et que cet échantillon fournisse un indice en faveur de l'attribution des *Alethopteris* aux Fougères, sans cependant qu'on puisse rien affirmer à cet égard; mais j'ai rappelé que des indices analogues avaient également été recueillis pour d'autres Cycadoflilicinées, les *Sphenopteris* du groupe du *Sphen. Hœninghausi* paraissant avoir porté des pennes fertiles du type *Calymmatotheca* et avoir eu en même temps pour tiges les *Lyginopteris* ou *Lyginodendron*.

M. Lomax a résumé (2) ce que l'on sait de ce dernier genre, ainsi, d'ailleurs, que des *Heterangium* et des *Medullosa*, et M. A.-C. Seward a fait une étude détaillée d'une tige à bois secondaire très développé (3), que, d'accord avec Williamson, il rapporte au genre *Lyginodendron*, mais comme une espèce particulière, *Lyg. robustum*, en signalant son analogie avec les *Cycadoxylon*. La région centrale de cette tige est malheureusement mal conservée, mais la présence, sur quelques points

(1) R. Zeiller : Éléments de Paléobotanique; 1900.

(2) J. Lomax : Recent investigations on plants of the Coal-measures (*Trans. Manchester Geol. Soc.*, XXVI, p. 237-262, pl. I-VI: 1899).

(3) A. C. Seward : A contribution to our knowledge of Lyginodendron (*Ann. of Bot.*, XI, p. 65-86, pl. V, VI; 1897).

Digitized by Google

de la périphérie de la moelle, de lames de bois à orientation inverse du bois secondaire, justifie les rapprochements faits par l'auteur. D'autre part l'échantillon décrit ne laisse pas de rappeler à certains égards, notamment par les sorties de faisceaux foliaires à 120° les unes des autres, comme par les fortes ondulations que présentent les bandes ligneuses en coupe tangentielle au voisinage de la moelle, une tige du terrain houiller du Brésil que j'ai décrite (1) sous le nom de *Dadoxylon Pedroi*, mais sur laquelle je n'ai, il est vrai, pas trouvé trace de bois centripète. Peut-être est-il permis de se demander, étant donné les différences qui semblent exister par rapport au *Lyg. oldhamium*, notamment dans la disposition des faisceaux primaires, si la tige décrite par M. Seward appartient bien positivement à ce même genre *Lyginodendron*.

Le même auteur a fait connaître, sous le nom de *Megaloxylon* (2), un nouveau type générique, provenant du Houiller inférieur du Lancashire, qui vient encore prendre place parmi les Cycadofilicinées : c'est une tige à structure conservée, dont l'axe primaire comprend de nombreux faisceaux centripètes, à protoxylème externe, disposés à la périphérie d'une masse de métaxylème composée d'éléments parenchymateux et de courtes et larges trachéides aréolées. Cet axe primaire est entouré d'un bois secondaire de type cycadéen, formé de trachéides aréolées et d'épais rayons médullaires ; mais abstraction faite de ce développement secondaire, on peut comparer la structure de la stèle primaire de ce genre *Megaloxylon* à celle des *Lygodium*, dont la tige, également monostélique, présente de même à sa périphérie une série de faisceaux nettement centripètes. Cette tige rappelle ainsi, comme celles des *Lyginodendron* et des *Heterangium*, à la fois les Fougères et les Cycadées.

D'autre part les études de MM. Scott (3) et Worsdell (4) sur différentes Cycadées vivantes ont fait reconnaître chez celles-ci certains détails anormaux de structure qui rappellent des dispositions similaires constatées chez les Cycadofilicinées. C'est ainsi notamment que M. Worsdell a vu le bois centripète des faisceaux foliaires se prolonger parfois, chez de jeunes pieds de *Cycas*, assez bas dans l'écorce, et que M. Scott a retrouvé ce bois centripète non plus seulement sur des

(1) R. Zeiller : *Bull. Soc Géol. Fr.*, XXIII, p. 619-627, fig. 8-19, pl. IX; 1896.

(2) A.-C. Seward : Notes on the Binney Collection. Part. II. *Megaloxylon* gen. nov. (*Proc. Cambridge Phil. Soc.*, X, p. 158-174, pl. V-VII; 1899).

(3) D.-H. Scott : The anatomical characters presented by the peduncle of Cycadaceæ (*Ann. of Bot.*, XI, p. 400-419, pl. XX, XXI; 1897).

(4) W.-C. Worsdell : The vascular structure of the sporophylls of the Cycadaceæ (*Ann. of Bot*, XII, p. 203-241, pl. XVII, XVIII; 1898); The comparative anatomy of certain Genera of the Cycadaceæ (*Journ. Linn. Soc., Bot.*, XXIII, p. 437-457, pl. 20; 1898); The comparative anatomy of certain species of *Encephalartos* (*Trans. Linn. Soc. London*, 2d ser., V, p. 445-459, pl. XLIII; 1900).

Digitized by Google

faisceaux foliaires, mais sur les faisceaux caulinaires des pédoncules des cônes chez le *Stangeria*, le *Bowenia*, et chez certains *Zamia* et *Ceratozamia*. Les mêmes auteurs ont reconnu aussi, soit chez des pieds jeunes, soit dans les pédoncules de divers cônes, des faisceaux libéro-ligneux concentriques, et parfois, dans certaines tiges d'*Encephalartos*, des faisceaux à orientation inverse, toutes dispositions qui semblent devoir être regardées comme des manifestations ataviques. Aussi M. Worsdell conclut-il (1) à une liaison génétique directe entre les Cycadées et les Cycadofilicinées.

M. Grand'Eury a eu la bonne fortune de découvrir à Saint-Etienne (2) une forêt de *Calamites Suckowi* encore en place et de pouvoir en suivre les tiges, d'une part jusqu'à leurs rhizômes, aux articulations desquels il a reconnu la présence de feuilles écailleuses non soudées en gaîne, d'autre part jusqu'à leurs rameaux feuillés : à leur partie supérieure, probablement à la hauteur où, émergeant de l'eau ou de la vase, elles devenaient aériennes, ces tiges, toujours très minces et probablement herbacées, allongent leurs entrenœuds, leurs côtes se rétrécissent, et elles revêtent les caractères du *Cal. Cisti*; les rameaux feuillés sont ceux que l'auteur avait antérieurement décrits sous les noms d'*Asterophyllites viticulosus* et de *Calamocladus parallelinervis*; ils sont accompagnés de petits épis du type du *Calamostachys vulgaris*, très analogues aux épis d'*Equisetum*.

Le regretté Dr H. B. Geinitz (3) a consacré le dernier travail de sa longue et belle carrière scientifique à la revision des Calamariées ou Equisétinées houillères et permiennes de la Saxe, en y comprenant les Sphénophyllées, mais il n'a fourni sur elles aucun renseignement nouveau.

M. de Solms a étudié (4) un échantillon d'*Archæocalamites* ou *Asterocalamites* à structure conservée provenant du Culm de Glätzisch-Falkenberg et a confirmé les observations faites antérieurement par M. Renault sur ce genre, touchant notamment la disposition des coins ligneux; mais il a constaté, sur cet échantillon, qu'il désigne sous le nom d'*Arch. Gœpperti*, que les coins ligneux étaient composés de deux sortes de trachéides, les unes rayées ou du moins munies de larges aréoles unisériées, allongées transversalement, les autres à aréoles

(1) W.-C. Worsdell : The origin of modern Cycads (*Rep. Brit. Assoc. adv. Sci.*, Bradford 1900, p. 938-939).

(2) C. Grand'Eury : Forêt fossile de *Calamites Suckowii* (*C. R. Acad. Sc.*, CXXIV, p. 1333-1336; 1897).

(3) H.-B. Geinitz : Die Calamarien der Steinkohlenformation und des Rothliegenden im Dresdener Museum (*Mitteil. aus d. k. min.-geol. u. prähist. Mus. in Dresden*, XIV. Heft, VIII-29 p., 1 pl ; 1898).

(4) H. Graf zu Solms-Laubach : Ueber die in den Kalksteinen des Culm von Glätzisch-Falkenberg in Schlesien enthaltenen Structur bietenden Pflanzenreste (*Botan. Zeitung*, 1897, p. 219-226, pl. VII).

Digitized by Google

polygonales plurisériées ; les premières ne s'observent qu'au voisinage de la lacune contiguë à la moelle et paraissent devoir être considérées comme représentant la portion primaire du bois.

M. B. Renault a complété (1), par quelques détails nouveaux sur divers types spécifiques de Saint-Etienne, de Commentry ou de l'Autunois, les renseignements qu'il avait déjà donnés dans la *Flore fossile du terrain houiller de Commentry* ou dans la *Flore du bassin permien d'Autun*, sur les genres *Bornia (Asterocalamites)*, *Arthropitys* et *Calamodendron* ; il a recherché en particulier s'il n'y existait pas de bois primaire centripète et il n'en a trouvé nulle trace. Il a fait en outre, sur le *Macrostachya crassicaulis* de Commentry, des observations d'un haut intérêt : il a reconnu en effet que les tiges de cette espèce, conservées sous forme d'épaisse lame charbonneuse, étaient munies d'un véritable bois, à structure d'*Arthropitys*, et dans les épis attachés à ces mêmes tiges il a constaté la présence de macrospores à la base, et de microspores à la partie supérieure, celles-ci de forme tétraédrique, groupées en tétrades globuleuses : on a donc affaire là, à n'en pas douter, à une Calamodendrée cryptogame. M. Renault ne croit pas néanmoins devoir en conclure que toutes les Calamodendrées soient également cryptogames et qu'il faille, comme l'admettent la plupart des paléobotanistes, les rattacher aux Equisétinées : il fait valoir, à l'appui de sa manière de voir et notamment en ce qui regarde les *Calamodendron*, la forme différente des tétrades observées par lui dans les épis de ce dernier genre, lesquelles se montrent formées de quatre corps sphériques, souvent pluricellaires, groupés en tétraèdres et enveloppés par une membrane commune, sans doute la membrane de la cellule-mère ; ces tétrades se dispersaient sans subir de modification, et l'on en rencontre de semblables dans la chambre pollinique de certaines graines. J'ai fait observer toutefois (2) qu'il ne résultait pas nécessairement de ces observations qu'il s'agit là de grains de pollen, aptes à féconder ces graines, et j'ai rappelé que M. Hirasé avait observé souvent, dans la chambre pollinique des graines de *Ginkgo*, des grains de pollen provenant de tout autres plantes.

Dans l'étude qu'il a faite des *Equisetum*, M. Jeffrey (3) a étudié parallèlement les Calamites, au point de vue de leur structure, ainsi que les *Sphenophyllum*, dans lesquels il est disposé à voir la souche des Equisétinées, leur stèle massive ayant pu passer à une stèle à axe occupé par de la moelle et ultérieurement lacuneux. Il discute l'interprétation des tubercules situés au sommet des côtes, et voit en eux le moulage, non des « canaux infranodaux » de Williamson, mais de la

(1) B. Renault : Notice sur les Calamariées (*Bull. Soc. hist. nat. Autun*, IX, p. 305-354, pl. I-XII; 1896; XI, p. 377-436, pl. I-X; 1898).

(2) R. Zeiller; Eléments de Paléobotanique; 1900.

(3) E.-C. Jeffrey : The development, structure and affinities of the Genus *Equisetum* (*Mem. Boston Soc. nat. hist.*, V, p. 155-190, pl. 26-30; 1899).

Digitized by Google

cavité médullaire d'organes rhizophores homologues de ceux des *Equisetum*. Il convient d'ajouter toutefois qu'une étude ultérieure (1) l'a conduit à revenir sur cette opinion, l'examen de diverses préparations l'ayant convaincu que les racines des Calamites ne partaient pas de ces organes infranodaux : il signale en même temps, dans ce dernier et très récent travail, la ressemblance des lacunes infranodales des Calamites avec celles qu'il a constatées, également au-dessous des nœuds, chez diverses Dicotylédones palustres, notamment chez le *Potentilla palustris*, et qui accompagnent les faisceaux foliaires. Il regarde actuellement les lacunes infranodales des Calamites comme des lacunes raméales.

Je mentionnerai enfin, pour terminer les observations relatives aux Equisétinées, les détails que j'ai donnés (2) sur la nouvelle forme de *Phyllotheca*, *Phyll. Rallii*, que j'ai observée dans les couches westphaliennes de Coslou et qui se rapproche à tous égards, notamment par ses épis fructificateurs, de l'*Annularia radiata*, dont elle ne diffère que par ses feuilles soudées à leur base en gaîne évasée. J'ai confirmé en même temps, d'après les examens des échantillons originaux, le rattachement présumé par M. Seward (3), du *Calamocladus frondosus* Gr. Eury, du Stéphanien du Gard, à ce même genre *Phyllotheca*, réputé jusqu'alors absent de notre flore houillère.

M. Scott a fait connaître (4), du Carbonifère inférieur d'Ecosse, un type générique nouveau des plus remarquables, qu'il a désigné sous le nom de *Cheirostrobus*, et qui est représenté par un cône à structure conservée, offrant, le long de son axe, des verticilles non alternants de bractées, au nombre de 36 par verticille. Ces bractées, bifurquées à leur sommet en deux pointes dressées verticalement, se soudent trois par trois à leur base, chaque groupe de trois représentant en réalité trois lobes d'une bractée unique ; de leur aisselle se détachent, en nombre égal à ces bractées stériles, des pédicelles sporangifères qui n'en sont que des lobes ventraux et qui se dilatent à leur sommet en un disque pelté portant quatre sporanges, disposés comme ceux des *Calamostachys* ; mais ces sporanges, au lieu d'être ovoïdes ou globuleux, sont longuement tubuleux, mesurant 1 cm. de longueur, et s'allongeant horizontalement le long du pédicelle commun ; ils ne renferment qu'une seule sorte de spores. L'axe du cône est constitué par une stèle à douze pôles périphériques saillants, formée de trachéides ponctuées à ponctuations aréolées plurisériées, accompagnées dans la région cen-

(1) E.-C. Jeffrey : On infranodal organs in Calamites and Dicotyledons (*Ann. of Bot.*, XV, p. 135-146, pl. VIII, IX; 1901).

(2) R. Zeiller : Etude sur la flore fossile du bassin houiller d'Héraclée; 1899.

(3) A.-C. Seward : Fossil Plants; 1898.

(4) D.-H. Scott: On the structure and affinities of fossil plants from the palaeozoic rocks: On *Cheirostrobus*, a new type of fossil cone from the Lower Carboniferous strata (*Phil. Trans. Roy. Soc.*, vol. 189 B, p. 1-34, pl. 1-6; 1897).

Digitized by Google

trale d'éléments parenchymateux. Cette stèle primaire est entourée, mais dans le pédoncule seulement, d'un anneau de bois secondaire formé de bandes radiales de trachéides scalariformes, séparées par des rayons médullaires.

La constitution de l'axe rappelle ainsi celle des tiges de *Lepidodendron*, mais avec cette différence, que les cordons trachéens périphériques y courent verticalement, parallèlement les uns aux autres, sans s'anastomoser entre eux ; elle rappelle également, sauf ses pôles plus nombreux, les *Sphenophyllum*, dont le genre *Cheirostrobus* se rapproche en outre par les relations mutuelles qui existent entre les lobes stériles des bractées et les pédicelles sporangifères ; enfin la disposition des sporanges, attachés par quatre à un disque pelté, tend à rapprocher ce type des Calamariées. Ce genre offre ainsi des affinités complexes et, tout en le regardant comme plus étroitement allié aux *Sphenophyllum*, à côté desquels il le place pour constituer la classe des *Sphenophyllales*, M. Scott (1) le considère comme attestant l'existence de liens génétiques entre les Lycopodinées, les Sphénophyllées et les Equisétinées, et leur rattachement à une souche ancestrale commune.

J'ai pu, sur un échantillon de Lycopodinée herbacée du Stéphanien supérieur de Blanzy (2), présentant l'aspect d'une Sélaginelle et pourvu de longs épis de fructification, établir l'hétérosporie de ces épis et par conséquent l'existence, dans la flore houillère, de véritables Sélaginellées : j'ai reconnu en effet que les sporanges situés à la base des épis renfermaient des macrospores, au nombre de 16 ou de 24, plus rarement de 20, dans chacun, tous les autres sporanges renfermant des microspores. Nos Sélaginelles actuelles ne possédant que 4 macrospores dans chaque macrosporange, j'ai émis l'avis qu'elles étaient dérivées des formes paléozoïques par une stérilisation progressive du tissu sporogène des macrosporanges.

Sir W. Dawson a, dans un de ses derniers travaux (3), passé en revue les espèces du Houiller du Canada appartenant au genre *Lepidophloios*, parmi lesquelles il comprend une forme qu'il avait précédemment décrite sous le nom de *Lepidodendron cliftonensis*, mais dont les coussinets foliaires réfractés conduisent à le ranger dans le genre *Lepidophloios* ; ce serait, dans ce genre, l'espèce la plus rapprochée du genre *Lepidodendron*. L'étude d'échantillons de *Lepidophl. acadianus* à structure conservée a montré que les tiges de cette espèce appartenaient, au point de vue de la constitution anatomique, au type bien connu du *Lepidod. Harcourti*.

(1) D.-H Scott : Studies in fossil botany ; 1900.

(2) R. Zeiller : Sur une Sélaginellée du terrain houiller de Blanzy (*C. R. Acad Sc.*, CXXX, p. 1076-1078; 1900).

(3) Sir J.-W. Dawson : On the Genus *Lepidophloios* as illustrated from the Coal Formation of Nova Scotia and New Brunswick (*Proc. and Trans. Roy. Soc. Canada*, 2d ser., III, sect. IV, p. 57-78, pl. I-XIV ; 1897).

Digitized by Google

M. Weiss rapporte de même au genre *Lepidophloios* un fragment de rameau du Houiller d'Angleterre qui se rapproche, par sa structure, du *Lepidod. fuliginosum* (1), mais qui porte, comme les rameaux fructifères de *Lepidophloios*, des tubercules saillants du type *Halonia*, disposés en deux séries et correspondant à des insertions de cônes.

M. Seward a, d'ailleurs, attribué positivement au genre *Lepidophloios* le *Lepidod. fuliginosum* Will., qui correspond à des rameaux fructifères de ce genre et dont il a étudié plusieurs échantillons, provenant de la collection Binney (2). Il a insisté en particulier sur les caractères des tissus qui entourent l'anneau ligneux et qui présentent les caractères de tissus sécréteurs sans rien qui ressemble aux éléments libériens habituels ; il estime que cette zone de tissu sécréteur jouait le rôle du liber, dont elle occupe la place. Il a fait la même constatation sur un gros tronc à structure conservée provenant du Carbonifère inférieure de Dalmeny en Ecosse, et dont il a fait une étude détaillée en collaboration avec M. Hill (3) ; l'axe ligneux de ce tronc présente un bois primaire constitué comme celui du *Lepidod. Harcourti*, mais entouré d'un anneau très épais de bois secondaire ; l'observation la plus intéressante a porté sur les traces foliaires, qui se sont montrées constituées par un cordon primaire à éléments trachéens situés un peu en dedans de son bord externe, accompagné d'un bois secondaire rayonnant, développé surtout sur les bords antérieur et latéraux, manquant même le plus souvent sur le bord interne. Ce fait est d'autant plus digne d'être noté que des cordons foliaires diploxylés n'avaient encore été signalés, parmi les Lycopodiinées paléozoïques, que chez les Sigillaires, et qu'il s'agit ici d'une Lépidodendrée. Les auteurs rapprochent ce tronc de Dalmeny du *Lepidodendron Wünschianum* Will., auquel M. Scott (4) le rapporte même formellement ; mais ils inclinent à le croire en réalité identique au *Lepidod. Harcourti*, dont il représenterait l'état âgé, non encore observé jusqu'ici, avec un anneau de bois secondaire entourant la couronne de bois primaire. Ils considèrent, d'ailleurs, l'une et l'autre de ces formes spécifiques comme appartenant en réalité au genre *Lepidophloios*.

J'ai retrouvé, d'autre part, ce type de structure du *Lepid. Harcourti*

(1) D.-H. Scott : On a fine specimen of the Halonial branch of a *Lepidodendron* allied to *L. fuliginosum* (Will.) (*Rep. Brit. Assoc. Adv. Sci.*, Bristol 1898, p. 1049). — F.-E. Weiss : On a biserial *Halonia* belonging to the genus *Lepidophloios* (*Ibid.*, Dover 1899, p. 927).

(2) A.-C. Seward : Notes on the Binney Collection of Coal-Measure Plants. Part. I. Lepidophloios (*Proc. Cambridge Phil. Soc.*, X, p. 137-157, pl. III, IV; 1899).

(3) A.-C. Seward and A.-W. Hill : On the structure and affinities of a Lepidodendroid stem from the Calciferous Sandstone of Dalmeny, Scotland, possibly identical with *Lepidophloios Harcourtii* (Witham) (*Trans. Roy. Soc. Edinburgh*, XXXIX, p. 907-931, pl. I-IV; 1900).

(4) D.-H. Scott : Studies in fossil botany; 1900.

Digitized by Google

sur des échantillons du Permo-houiller du Brésil (1), qui, bien que la conservation de leur surface externe laisse un peu à désirer, paraissent appartenir sans doute possible au genre *Lepidodendron;* j'ai constaté en même temps l'identité de ces échantillons avec celui que M. Renault avait décrit il y a une dizaine d'années sous le nom de *Lycopodiopsis Derbyi*, et j'ai montré que les particularités qui avaient motivé la création de ce genre *Lycopodiopsis* devaient être attribuées à des altérations, d'origine probablement microbienne, qui, en faisant disparaître de place en place l'ornementation des trachéides, donnaient, en coupe transversale, à la couronne de bois primaire une apparence discontinue, comme si elle avait été constituée par une série de bandes ligneuses indépendantes séparées par du tissu parenchymateux.

M. C. Eg. Bertrand, en étudiant une série de nodules du terrain houiller d'Hardinghen (2), dans le Boulonnais, a reconnu qu'ils étaient formés par des accumulations de plaques subéreuses, à structure plus ou moins effacée, provenant vraisemblablement d'écorces de *Lepidodendron aculeatum ;* ces plaques subéreuses paraissent avoir été amenées à l'état de gelée molle et avoir, en cet état, été pénétrées par des imprégnations bitumineuses, en même temps que minéralisées par du carbonate de chaux.

M. Bertrand a en outre résumé les caractères anatomiques des Lépidodendrons et les a comparés à ceux des *Isoëtes*, en mettant à profit les travaux de MM. Cornaille et Hovelacque (3) : il conclut de cette comparaison que l'on retrouve dans ce dernier genre les particularités essentielles de structure des Lépidodendrons et que les *Isoetes* sont les derniers représentants des Lépidodendrées.

M. Maslen a reconnu (4), sur les bractées des *Lepidostrobus*, ou cônes de *Lepidodendron*, l'existence d'une ligule, située immédiatement au-delà du sporange, un peu en deçà de la partie redressée du limbe, affectant par conséquent la même position que chez les *Selaginella*. Il a étudié en outre (5) divers échantillons de ce même genre *Lepidostrobus*, dont il a fait connaître une forme spécifique nouvelle, remarquable par ses dimensions très réduites. Il a pu, sur la plupart des échantillons bien conservés, constater l'existence, dans les bractées, d'un cordon de *parichnos* accompagnant le faisceau foliaire sur son bord externe, comme cela a

(1) R. Zeiller : Sur un *Lepidodendron* silicifié du Brésil (*C. R. Acad. Sc.*, CXXVII, p. 245-247; 1898).

(2) C.-E. Bertrand : Premières observations sur les nodules du terrain houiller d'Hardinghen (*Ass. franç. av. d. sci.*, 28e sess., Boulogne-sur-Mer, I, p. 246-247; II, p. 388-396; 1900).

(3) C.-E. Bertrand, F. Cornaille et M. Hovelacque : Sur la structure des Isoetes (*Ass. franç. av. d. sci.*, 26e sess., Saint-Etienne, II, p. 484-493; 1898).

(4) A.-J. Maslen : The ligule in *Lepidostrobus* (*Ann. of Bot.*, XII, p. 256-259, 1 fig ; 1898).

(5) A.-J. Maslen : The structure of *Lepidostrobus* (*Trans. Linn. Soc. London*, V, p. 357-377, pl. 36-38; 1899).

Digitized by Google

lieu dans les tiges pour les traces foliaires correspondant aux feuilles végétatives.

M. Scott a repris l'étude du cône du *Lepidodendron Spenceri*, décrit il y a quelques années par Williamson, et a reconnu (1) qu'il différait des vrais *Lepidostrobus* par un certain nombre de caractères importants : les bractées s'élargissent à leur sommet en un limbe pelté ; le sporange, de forme globuleuse, au lieu d'être soudé au pédicelle de la bractée, s'attache à la base du limbe de celle-ci ; les spores, intermédiaires comme taille entre les microspores et les macrospores habituelles des Lépidodendrons, sont entourées d'un bourrelet équatorial formé de trois cellules stériles. Il a établi pour ce type, sous le nom de *Spencerites*, un nouveau genre dont il a fait connaître en même temps une deuxième forme spécifique, provenant, comme la première, du Houiller inférieur d'Halifax.

Le même auteur a décrit un nouveau et très remarquable type de cône, découvert par MM. Wild et Lomax (2) : on peut le définir comme un *Lepidostrobus* de dimensions médiocres, mais dont les macrosporanges ne renferment qu'une grosse macrospore, provenant d'une tétrade dont les trois autres cellules se sont arrêtées dans leur développement ; le macrosporange s'ouvre à sa partie supérieure par une fente longitudinale à lèvres dressées ; le caractère le plus particulier consiste en ce que, à maturité, ce macrosporange se montre enveloppé par une sorte de tégument non adhérent, qui part des bords latéraux du pédicelle et s'élève jusqu'au-dessus de lui, l'ensemble offrant, en coupe transversale, l'apparence d'une graine surmontée de son canal micropylaire. Williamson avait observé de ces bractées détachées, avec leur sporange ainsi tégumenté, et les avait regardées comme des graines du genre *Cardiocarpus*. Un autre échantillon a montré la même disposition, mais avec des microsporanges remplis de microspores. Sur les portions de cône non parvenues à maturité, il n'y a pas de tégument, et il n'est annoncé que par la présence de deux bourrelets latéraux le long du pédicelle. M. Scott donne à ce type générique, dont il a observé deux espèces, le nom de *Lepidocarpon ;* tout en le rattachant aux Lycopodinées, il fait ressortir les analogies qu'il présente avec les appareils fructificateurs des Phanérogames, la macrospore demeurant enfermée dans un macrosporange tégumenté et ne se séparant pas de la sporophylle lors de la dissémination ; il regarde ce type comme ayant en quelque sorte franchi la limite séparative des Sporophytes et des

(1) D.-H. Scott : On the structure and affinities of fossil plants from the palaeozoic rocks. II. On *Spencerites*, a new genus of Lycopodiaceous cones from the Coal Measures, founded on the *Lepidodendron Spenceri* of Williamson (*Phil. Trans. Roy. Soc.*, vol. 189 B, p. 83-1106, pl. 12-15 ; 1898).

(2) G. Wild and J. Lomax : A new *Cardiocarpon* — bearing strobilus (*Ann. of Bot.*, XIV, p. 160-161 ; 1900). — D.-H. Scott : Notes on the occurrence of a seed-like fructification in certain palæozoic Lycopods (*Ibid.*, XIV, p. 713-717 ; *Proc. Roy. Soc.*, LXVII, p. 306-309 ; 1900).

Digitized by Google

Spermophytes. Peut-être cependant, quelque insolites que soient de telles dispositions chez les Cryptogames vasculaires, ne faut-il pas s'exagérer l'importance de ce tégument, qui me semble pouvoir être comparé simplement au *velum* des *Isoetes*.

M. David White a créé (1) un nouveau nom générique, *Omphalophloios*, pour des tiges lépidodendroïdes du Westphalien supérieur du Missouri, décrites jadis par Lesquereux comme *Lepidodendron cyclostigma:* l'écorce en est divisée en compartiments rhomboïdaux ou hexagonaux marqués d'une trace ou d'un pli transversal en forme de croissant surmonté d'une cicatrice ou d'une dépression ovale munie d'un ombilic. M. White voit dans la trace en croissant une cicatrice foliaire, accompagnée d'une cicatrice axillaire. M. Kidston, dans un travail récent (2), tout en reconnaissant la légitimité de la création d'un genre nouveau, croit qu'il s'agit là d'échantillons imparfaitement conservés, très probablement identiques au *Lepidod. anglicum* Sternb., que, d'accord avec Brongniart, il regarde comme un rhizôme analogue aux *Stigmaria*.

M. Kidston a fait connaître, du Houiller moyen du Yorkshire (3), deux nouvelles formes spécifiques de *Sigillaria*, ainsi que divers cônes de ce même genre, constituant deux espèces nouvelles, et dont l'un présente cette particularité, d'une bifurcation de l'axe, de telle sorte que deux cônes se trouvent portés sur le même pédoncule. Un autre *Sigillariostrobus*, à bractées inférieures chargées de macrospores, présente, sur l'une de ses bractées supérieures, une fine granulation, que l'auteur est porté à interpréter comme correspondant à des microspores enfermées dans un microsporange : c'est en effet l'interprétation la plus naturelle, et c'est là un intéressant indice de l'hétérosporie, d'ailleurs plus que probable, des cônes de Sigillaires. M. Kidston signale, dans ce même travail, confirmant ainsi une observation antérieure de M. de Solms, l'existence, sur certains échantillons de *Sigillaria spinulosa*, d'une couronne continue de bois primaire; il est porté à penser que la division du bois primaire en faisceaux lunulés contigus, constatée par Brongniart et par M. Renault, doit provenir d'une dissociation des éléments de cette couronne annulaire, primitivement fermée.

M. C. Eg. Bertrand a pu étudier un fragment de tige de Sigillaire à côtes, à structure conservée, trouvé par M. Breton dans le Westphalien du Boulonnais (4) et appartenant probablement au *Sig. elongata*. Cette tige lui a offert une structure extrêmement analogue à celle des Sigil-

(1) D. White : *Omphalophloios*, a new Lepidodendroid type (*Bull. Geol. Soc. Amer.*, IX, p. 329-342, pl. 20-23; 1898); Fossil Flora of the Lower Coal Measures of Missouri; 1899.

(2) R. Kidston : Carboniferous Lycopods and Sphenophylls (*Trans. nat. hist. Soc. Glasgow*, VI, p. 25-140; 1901).

(3) R. Kidston : On the fossil Flora of the Yorkshire Coal Field. Second paper. (*Trans. Roy. Soc. Edinburgh*, XXXIX, p. 33-62, pl. I-III; 1897).

(4) C.-E. Bertrand : On the structure of the stem of a ribbed *Sigillaria* (*Ann. of Bot.*, XIII, p. 607-609; 1899).

Digitized by Google

laires sans côtes d'Autun et de St-Etienne, dont elle ne diffère guère que par la continuité indiscutable de la couronne de bois primaire, et par l'absence de bois secondaire centrifuge dans les faisceaux foliaires : la couronne de bois primaire, entourée d'un anneau peu épais de bois secondaire, présente à la périphérie une série de pointements réguliers, correspondant aux sillons séparatifs des côtes, et formés des éléments ligneux les plus fins ; c'est du fond des sinus compris entre ces pointements que partent les traces foliaires.

M. Bertrand regarde cette structure comme confirmant nettement la nature cryptogamique des Sigillaires à côtes.

MM. Renault et Roche ont décrit (1) une nouvelle forme de tige diploxylée du Culm d'Esnost, à laquelle ils ont appliqué le nom générique de *Syringodendron*, en le spécialisant dans un sens quelque peu détourné de son sens légitime : cette tige est marquée extérieurement de fortes cicatrices sous-corticales simples, à contour ovale, rappelant celles des *Syringodendron* monostigmés, mais ne résultant pas, comme ces dernières, de la fusion de cicatrices géminées. L'axe est occupé par une couronne de bois primaire à pointements périphériques, entourée d'une large zone de bois secondaire centrifuge, formé, comme le bois primaire, de trachéides rayées. Les cicatrices externes correspondent à d'épais cordons de cellules vasiformes au milieu desquelles on distingue du côté inférieur, un très grêle cordon, mal conservé, de structure indiscernable, que les auteurs considèrent comme correspondant à de petites feuilles caduques, et qu'accompagne, un peu au-dessus, un faisceau formé d'un bois primaire axial entouré d'un bois secondaire rayonnant, faisceau qui correspondrait à un organe axillaire, ramule ou piquant, également caduc. MM. Seward et Hill ont fait ressortir (2) la concordance remarquable de structure qui existe entre la tige lépidodendroïde de Dalmeny qu'ils ont étudiée et ce *Syringodendron esnostense ;* ils regardent, d'ailleurs, les cordons diploxylés de celui-ci comme étant les véritables cordons foliaires, et ils estiment qu'il s'agit là d'un *Lepidodendron* ou d'un *Lepidophloios*, peut-être d'une Sigillaire.

M. Scott a signalé la présence, dans certains bois à structure d'*Araucarioxylon* (3), provenant du Carbonifère inférieur de l'Ecosse ou du nord de l'Angleterre, de faisceaux périmédullaires de bois primaire, constitués comme ceux des *Lyginodendron*, c'est-à-dire à éléments trachéens situés en dedans de leur bord externe et entourés de trachéides réticulées ou ponctuées. L'un de ces bois, à moelle peu développée, constitue un type spécifique nouveau, *Arauc. fasciculare* ;

(1) B. Renault et A. Roche : Sur une nouvelle Diploxylée (*Bull. Soc. hist. nat. Autun*, X, p. 633-653, pl. V-VIII; 1897).

(2) A.-C. Seward and A.-W. Hill : On the structure and affinities of a Lepidodendroid stem from the Calciferous Sandstone of Dalmeny (*Trans. Roy. Soc. Edinburg*, XXXIX; 1900).

(3) D.-H. Scott : On the primary wood of certain Araucarioxylons (*Ann. of Bot.*, XIII, p. 615-619; 1899).

Digitized by Google

l'autre, à moelle large, renfermant de nombreux sacs sécréteurs, à faisceaux périmédullaires très nombreux et fréquemment anastomosés entre eux, appartient à l'*Arauc. antiquum* Witham (sp.). L'auteur regarde ces deux types comme établissant un lien entre les Cycadoflilicinées et les Cordaïtées. Il me paraît probable qu'ils doivent être tout au moins rapprochés des Poroxylées.

M. Sterzel a décrit (1) une série de grands troncs provenant de la forêt fossile permienne de Chemnitz-Hilbersdorf, qui ont été transportés dans le jardin du Musée de Chemnitz et dont certains mesurent jusqu'à 10 mètres de longueur; ils appartiennent à l'*Araucarioxylon saxonicum*.

M. D. P. Penhallow a passé en revue (2) les bois fossiles du type *Araucarioxylon* ou *Dadoxylon* trouvés dans le Dévonien et le Houiller ou le Permien de l'Amérique du Nord; il les rapporte pour la plupart au genre *Cordaites* et en décrit six nouvelles formes spécifiques; il fait connaître également dans ce travail un *Dadoxylon* et un *Pityoxylon* nouveaux du Permien, un *Dadoxylon* du Trias inférieur, un *Araucarioxylon* et deux *Cupressinoxylon* de la série crétacée de Comanche.

M. C. Eg. Bertrand a fait une étude détaillée (3) des grains de pollen de Cordaïtes à apparence pluricellulaire qu'il a observés dans les nodules siliceux des schistes permiens de l'Allier; il a constaté que l'intine en était fortement plissée, ce qui les faisait paraître cloisonnés, et il conclut, du moins pour ces grains de pollen de Buxières, que la cavité de l'intine n'y était pas, au moment de leur dissémination, partagée en logettes par des cloisons cellulosiques.

MM. Wild et Butterworth ont donné quelques détails nouveaux, le premier sur le *Trigonocarpus olivæformis* (4), dont il présume que la coque, de consistance pierreuse, devait être entourée d'un périsperme charnu; le second sur les graines du genre *Lagenostoma* (5), du Houiller inférieur d'Oldham, à la surface desquelles il a reconnu l'existence de côtes longitudinales qui lui ont paru chargées d'un feutrage de longs poils; mais les figures photographiques qu'il en donne semblent indiquer de grandes cellules, constituant un tissu délicat, plutôt que des poils feutrés.

(1) J.-T. Sterzel : Gruppe verkieselter Araucariten-Stämme aus dem versteinerten Rotliegend-Walde von Chemnitz-Hilbersdorf (XIV. *Ber. naturwiss. Ges. zu Chemnitz*, 24 p., 1 pl.; 1900).

(2) D.-P Penhallow : Notes on the North American species of *Dadoxylon* with special reference to type material in the collections of the Peter Redpath Museum, Mc Gill University (*Trans. Roy. Soc. Canada*, 2d ser., VI, sect. IV, p. 51-97, 18 fig.; 1900).

(3) C.-E. Bertrand : Remarques sur la structure des grains de pollen de Cordaites (*Ass. franç. av. d. sci.*, 27e sess., Nantes, II, p. 436-441; 1899).

(4) G. Wild : On new and interesting features in *Trigonocarpon olivæforme* (*Trans. Manchester Geol. Soc.*, XXVI, p. 434-445, pl. I, II; 1900).

(5) Butterworth : Some further investigation of fossil seeds of the genus *Lagenostoma* (Williamson) from the Lower Coal Measures, Oldham (*Mem. and Proc. Manchester lit. and phil. Soc.*, XLI, Nr. IX, 4 p., 1 pl ; 1897).

suivre).

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX

DE PHYSIOLOGIE ET DE CHIMIE

VÉGÉTALES

PARUS DE 1893 à 1900 (*Suite*)

Les plantes parasites ou saprophytes présentent un très grand intérêt au point de vue de l'assimilation chlorophyllienne. En effet ces plantes peuvent être vertes ou plus ou moins décolorées et alors la question se pose de savoir jusqu'à quel point les pigments assimilateurs restants concourent à la nutrition carbonée de la plante.

On sait déjà que selon Gaston Bonnier, les Rhinanthacées, quoique vertes, ne dégagent que peu ou point d'oxygène à la lumière. Griffon a étudié à ce sujet une plante saprophyte, le *Limodorum abortivum*, de la famille des Orchidées. Cette plante qui contient pourtant de la chlorophylle et qui a, quand elle est jeune, l'aspect d'une Asperge vert violacé, ne réduit pas non plus le gaz carbonique ou plutôt sa respiration l'emporte sur l'assimilation. Mais il est juste de dire que la distribution et la réduction des chloroleucites doivent avoir, chez les plantes, une grande part dans les phénomènes observés (1).

Les plantes peuvent présenter des variations morphologiques qui soient en rapport non avec leur nature propre, mais avec l'action que le milieu exerce sur elles. Or ces variations ne peuvent manquer de retentir plus ou moins sur l'assimilation chlorophyllienne.

Ainsi la lumière, la chaleur, les sels modifient plus ou moins la couleur et la structure des feuilles.

La lumière est indispensable à la production de la chlorophylle. Toutefois on sait depuis longtemps que des bulbes d'*Allium Cepa*, de *Crocus vernus* peuvent donner de jeunes pousses vertes à l'obscurité ; il en est de même pour des embryons de Pin, de Gui, des frondes de Fougères, etc. Or, des embryons de Pin Pignon, développés à l'obscurité, décomposent le gaz carbonique à la lumière et leur énergie assimilatrice, comparée à celle d'embryons analogues ayant évolué en présence de radiations lumineuses, paraît ne dépendre que du développement des tissus chlorophylliens ainsi que du nombre, des dimensions et de la

(1) Il est possible aussi, que, dans une mesure moindre, il est vrai, on puisse faire intervenir l'*action spécifique* des chloroleucites de ces plantes. On reviendra plus loin sur cette question.

Digitized by Google

teinte des chloroleucites d'autre part. Il en résulte que si la chlorophylle qui se forme ainsi à l'obscurité est différente de celle qui prend naissance à la lumière, cette différence n'aurait pas d'influence sensible sur l'assimilation (1).

En faisant développer des plantes dans des lumières inégalement réfrangibles, Téodoresco (2) a montré que sous l'influence des radiations vertes la surface des feuilles est très réduite ; cette surface est maximum dans les radiations bleues ; elle est intermédiaire dans les radiations rouges. Les épaisseurs des tissus palissadique et lacuneux, ainsi que la largeur moyenne des espaces aérifères ont également un minimum de développement dans le vert ; ces épaisseurs sont plus grandes dans le rouge et encore plus dans le bleu. En outre les chloroleucites sont dans la lumière verte plus petits, moins nombreux, à contours mal définis, épars dans les cellules et contiennent moins de chlorophylle que dans les lumières rouge et blanche. Or, l'énergie assimilatrice propre à chacune de ces feuilles montre ici encore que la différenciation du mésophylle, la quantité de chlorophylle sont bien en rapport étroit avec l'énergie de décomposition du gaz carbonique (3).

Il en est de même (4) dans le cas où, comme l'a fait Bonnier (5), on cultive deux plantes semblables à des températures différentes ou encore si l'on fait pousser des plantes alternativement à des températures extrêmes, c'est-à-dire par exemple pendant la nuit dans une étuve refroidie par de la glace et pendant la journée en plein soleil. On obtient alors des *plantes naines* comme dans les régions alpines. Or les feuilles de ces plantes, réduites en surface, ont une épaisseur et une différenciation du mésophylle très grandes ; mais bien que les cellules soient proportionnellement moins riches en chlorophylle et par conséquent la teinte moins verte, l'énergie assimilatrice est plus grande, par unité de surface que dans les feuilles, plus vertes, qui se sont développées dans les conditions naturelles. Encore une raison de plus qui montre l'importance capitale du tissu palissadique dans l'assimilation chlorophyllienne (6).

En ce qui concerne les sels, Griffon a étudié les nitrates, les sels de fer, le sulfate de cuivre, le sel marin et le carbonate de chaux.

Les nitrates et les sels de fer, cela est connu depuis longtemps, sont des agents actits du verdissement et ils influent très énergiquement sur l'assimilation.

Les sels de cuivre (Rumm, etc.), à des doses très faibles, augmentent aussi la production de la chlorophylle et par suite l'énergie assimi-

(1) (3) (4). Griffon : Loc. cit.

(2) Teodoresco : Ann. Sc. nat. Bot. 8e série X. 141.

(5) Bonnier : *Expériences sur la production des caractères alpins des plantes par l'alternance des températures extrêmes* (C. R. CXXVII. 307. 1898).

(6) Griffon : Loc. cit.

Digitized by Google

latrice. On s'explique ainsi, en dehors de l'action anticryptogamique, les bons effets des pulvérisations cupriques sur les feuilles.

Le sel marin modifie profondément la structure des plantes (Schimper, Costantin, Lesage, Stahl). On constate en effet, d'une part une augmentation de l'épaisseur du mésophylle, un développement plus parfait du tissu palissadique et une réduction des lacunes ; d'autre part, une formation moins abondante de chlorophylle, ce qui détermine une coloration vert jaunâtre ou vert pâle caractéristique. Or l'énergie assimilatrice, chez les feuilles des plantes halophytes, est toujours inférieure à celle des feuilles de la même espèce provenant de l'intérieur des terres : l'augmentation du tissu palissadique n'arrive donc pas à compenser la réduction de la chlorophylle due à l'action nuisible du sel marin.

Palladine (1) s'est occupé lui aussi de l'influence de différentes substances sur la production de la chlorophylle, mais il n'a pas poussé ses études plus loin, c'est-à-dire n'a pas recherché dans quelle mesure cette influence retentissait sur l'énergie assimilatrice.

Voici les résultats qu'il a obtenus. Certaines substances favorisent la formation de la chlorophylle : saccharose, raffinose, glucose, fructose, maltose, glycérine, galactose, lactose, dextrine.

D'autres substances n'exercent aucune action : inuline ; tyrosine.

D'autres enfin retardent ou empêchent complètement la formation de la chlorophylle : mannite, dulcite, asparagine, urée, alcool, chlorhydrate d'ammoniaque, acide quinique.

Enfin, pour que la chlorophylle prenne naissance, il est nécessaire que les tissus végétaux reçoivent plus d'oxygène qu'il ne leur en faut pour la respiration.

Pour expliquer les résultats obtenus dans la recherche de l'énergie assimilatrice d'un organe donné, on a souvent besoin de se demander dans quelle mesure les rayons lumineux utiles à la décomposition du gaz carbonique affaiblissent leur activité propre en traversant des tissus verts.

Timirjazeff a bien montré que la lumière blanche qui a traversé une dissolution de chrorophylle est devenue incapable de provoquer dans les feuilles le phénomène de l'assimilation et cela quelle que soit l'intensité de la lumière incidente. Mais il y a de grandes différences entre une feuille et une dissolution de chlorophylle.

Nagamatz avait essayé de résoudre directement le problème en plaçant une feuille derrière une autre et en examinant si, dans cette position, elle pouvait encore produire de l'amidon. Il a remarqué qu'un mésophylle de feuille recouvrante n'ayant pas plus de 200 μ d'épaisseur suffisait à arrêter la formation de l'amidon. Mais à raison de la nature

(1) Palladine : *Recherches sur la formation de la chlorophylle dans les plantes* (Revue générale de Botanique, IX. 385) 1897.

Digitized by Google

même du procédé employé, ce résultat ne prouve nullement que l'assimilation soit nulle.

Griffon (1) a repris la question en employant, pour mesurer l'énergie assimilatrice, la méthode des échanges gazeux. Il fait usage d'éprouvettes aplaties enduites d'un vernis noir au sommet et sur les côtés ; de cette façon la lumière ne peut arriver dans l'intérieur que par les deux faces planes. Il applique alors sur ces deux faces des portions rectangulaires de feuilles d'une espèce donnée qu'il maintient en place au moyen d'anneaux en caoutchouc.

Derrière une seule feuille, il y a toujours décomposition du gaz carbonique. Et il en est ainsi non seulement avec des feuilles minces comme celles d'Erable Sycomore (77 μ), de Châtaignier (80 μ), de Hêtre (90 μ), mais encore avec celles plus épaisses de Lilas (200 μ), de Lierre (300 μ). Il faut dire, toutefois, que les expériences qui ont donné ces résultats ont été faites à la lumière directe du soleil, la température variant entre 16 et 20 degrés, l'air employé contenant de 5 à 10 °/₀ d'acide carbonique.

Par contre, le plus souvent, derrière deux feuilles et dans les mêmes conditions de milieu, il y a généralement dégagement de gaz carbonique ; l'assimilation n'est pas encore nulle, mais elle est masquée par la respiration.

Le passage de la lumière au travers d'une feuille affaiblit néanmoins d'une manière notable la force vive des radiations qui servent à la fonction chlorophyllienne. C'est ainsi que derrière une feuille de Hêtre, l'assimilation se trouve réduite à 1/6, derrière une feuille de Vigne-vierge à 1/12, derrière une feuille de Poirier à 1/16, derrière une feuille de Lierre à 1/20.

Les résultats qui précèdent varient, comme il fallait s'y attendre, si l'on change les conditions de température et d'éclairement. Néanmoins on peut dire que, d'une manière générale, derrière une feuille à la lumière diffuse et derrière deux feuilles à la lumière directe, l'assimilation est nulle ou elle est masquée par la respiration.

Ces résultats permettent aussi, sans craindre d'aller au delà de la vérité que derrière un tissu vert assez riche en chlorophylle et présentant 300 μ d'épaisseur, l'assimilation du carbone est très réduite, sinon nulle.

Mais il n'y a pas que la chlorophylle qui arrête les rayons lumineux, il y a encore les tissus incolores comme le montrent des expériences faites sur des feuilles albinotiques ou encore sur des feuilles vertes ayant séjourné dans l'alcool.

Il découle de tout ce qui vient d'être rapporté que le rôle d'écran joué par des tissus, surtout s'ils sont chlorophylliens, vis-à-vis de cellules vertes, doit nécessairement influer sur l'énergie assimilatrice de ces dernières. La discussion parallèle des résultats numériques et des faits

(1) Griffon : *L'assimilation chlorophyllienne dans la lumière solaire qui a traversé des feuilles* (Ch. CXXIX, p. 1276. 1899. Revue générale de Botanique. 1900).

Digitized by Google

de structure tirés des feuilles mises en expérience montre que, comme Bonnier et de Lamarlière l'ont admis, le tissu palissadique est bien adapté à la plus facile pénétration de la lumière dans l'intérieur des tissus (Stahl).

L'examen des résultats qui viennent d'être rapportés montre que les facteurs anatomiques qui agissent sur l'énergie assimilatrice sont nombreux. Ces caractères consistent dans le développement du tissu palissadique et des lacunes, dans l'importance relative des tissus chlorophylliens et des tissus incolores et dans leur mode de répartition, dans le rôle d'écran joué par les assises vertes vis-à-vis des cellules situées plus profondément ; peut-être faudrait-il ajouter, dans une certaine mesure, outre l'épaisseur de la cuticule, la présence des cires épidermiques, le nombre des stomates et le développement des poils.

Certes si tous ces facteurs présentaient ensemble des variations dont les effets soient différents les uns des autres dans deux organes chlorophylliens, il serait impossible, après avoir mesuré l'énergie assimilatrice, de déterminer l'influence propre de chacun d'eux sur la décomposition du gaz carbonique. A plus forte raison les valeurs comparées de cette énergie ne pourraient-elles être connues sans le secours de l'expérience et en se basant uniquement sur des déductions anatomiques.

En somme, on est obligé d'admettre qu'en dehors des facteurs anatomiques invoqués à chaque instant et de la quantité de chlorophylle, il doit en exister d'autres que l'anatomie ne connaît pas, que la physiologie ne sait pas interpréter sinon révéler et qui influent sur la décomposition du gaz carbonique.

Peut-être la spécificité des chromophylles a-t-elle une action mais rien ne permet de le dire à l'heure actuelle. Les travaux physico-chimiques de Etard sur la matière verte, malgré leur intérêt, ne nous ont encore rien appris sur cette importante question.

Reste l'action d'une diastase dont le travail synthétique serait rendu possible grâce à une énergie étrangère, à la lumière et à la chaleur solaires par exemple, absorbées et utilisées par l'intermédiaire de la chlorophylle (Duclaux) (1).

Devaux (2) montre que les tissus profonds des tiges ligneuses sont, à partir d'un certain diamètre, en état d'asphyxie ; l'oxygène libre leur manque ; ils subissent la fermentation propre, avec dégagement d'acide carbonique et d'alcool. Cette asphyxie partielle est augmentée par une élévation de température ; mais elle existe à la température ordinaire.

L'auteur a constaté en effet, par des analyses directes, que les gaz des parties profondes renferment très peu d'oxygène, à 35° par exemple. D'autre part, le rapport $\frac{CO^2}{O}$ augmente et devient plus grand que

(1) Duclaux : *Traité de Microbiologie*, t. II, p. 740. 1899.
(2) Devaux : CR. CXXVIII. Mai 1899, p. 1346.

Digitized by Google

l'unité, ce qui est l'indice d'une production accessoire d'acide carbonique, production due précisément à la fermentation propre. Du reste les tiges mises en expérience ont été ensuite débitées en copeaux et distillées en présence d'un grand excès d'eau. Elles ont donné des quantités sensibles d'alcool. Ce corps a été caractérisé : 1° par les stries mobiles qui apparaissent durant la distillation au point de condensation des vapeurs ; 2° par le compte-gouttes de Duclaux ; 3° par la réaction de l'iodoforme.

Des faits analogues, quoique moins marqués, ont été mis en évidence avec des tiges de *Ficus Carica*, à la température ordinaire.

Berthelot (1) fait remarquer au sujet du travail précédent qu'on obtient aussi de l'alcool éthylique en distillant des feuilles vertes en présence de l'eau (Coudrier, Blé). Il ajoute en outre que pour conclure avec toutes les garanties voulues à la présence de l'alcool, il faut isoler ce dernier en nature par distillations fractionnées, le séparer ensuite au moyen du carbonate de potassium pur et cristallisé. Pour opérer rigoureusement il faut même changer cet alcool en éthylène dont la composition est vérifiée par l'analyse eudiométrique. Enfin, la détermination de $\frac{CO^2}{O}$ dont il a été question ci-dessus ne doit servir à donner, tant en physiologie animale qu'en physiologie végétale, que des indications préliminaires, mettant sur la voie de recherches plus approfondies et relatives à des principes complètement définis.

En ce qui concerne l'alcool trouvé dans les feuilles, Devaux (1) fait remarquer que la présence de ce corps y était assez inattendue. La feuille, dit-il, est un organe merveilleusement aéré, bien différent en cela des tiges ligneuses ; l'asphyxie y est à priori extrêmement improbable et aucune fermentation propre, aucun alcool ne devait s'y produire. L'auteur pense donc qu'il faut établir une distinction profonde entre l'alcool des tiges et celui des feuilles et autres tissus très aérés ; leur origine est très probablement différente, et c'est ce qu'il pense établir lorsque ses recherches seront plus avancées.

Or Maquenne (3), étudiant les échanges gazeux des feuilles préalablement maintenues dans le vide à l'abri de la lumière, a constaté que replacées dans l'air, elles dégagent plus d'acide carbonique que si elles n'avaient pas séjourné dans le vide. De même l'oxygène est mieux absorbé. La respiration est donc rendue plus active. Cette fonction « semble donc être le résultat d'une combustion lente d'un principe éminemment oxydable, que la cellule vivante sécrète constamment à

(1) Berthelot : C. R. CXXXIII. Juin 1899, p. 1366.

(2) Devaux: (Soc. des Sc. phys. et nat. de Bordeaux, 15 juin 1899). — L'auteur a trouvé de l'alcool dans presque tous les végétaux qu'il a examinés, ce qui le conduit à penser qu'il s'agit ici d'un fait général et d'une grande importance physiologique.

(3) Maquenne : C. R. CXIX. 100 et CXIX. 697.

Digitized by Google

l'abri de la lumière et qui est susceptible de s'y accumuler quand l'oxygène fait défaut dans l'atmosphère ambiante. »

D'après des expériences récentes, cette matière serait précisément l'alcool. En effet, GODLEWSKI et FOLSENIUSZ (1) ont montré que des Pois germant à l'abri de l'air produisent de l'alcool et de l'acide carbonique ; si l'on enrichit le milieu en glucose, la production d'alcool augmente ; il en est de même lorsque le glucose est remplacé par le saccharose, mais l'accroissement ne se manifeste qu'après le temps nécessaire à l'interversion de ce dernier.

Enfin MAZÉ (2) plaçant des graines stérilisées de Pois dans de l'eau bouillie constate qu'il n'y a pas de germination ou tout au moins d'évolution de la plantule; quant aux réserves elles disparaissent par solubilisation et fournissent de l'alcool.

Selon DUCLAUX (3), qui interprète tous ces faits, « l'alcool est un produit normal et nécessaire de la digestion des matières hydrocarbonées de la graine. Quand l'oxygène est présent, cet alcool est brûlé et passe inaperçu. Il faut, pour le mettre en évidence, soumettre la plante à une asphyxie qui la laisse vivre ou plûtôt qui laisse fonctionner la zymase qu'elle contient; mais ce n'est pas l'état d'asphyxie qui produit l'alcool, c'est l'état d'asphyxie qui le rend visible. »

(1) Godlewski et Folseniusz : Anzeiger der alt. Wochensch. in Krakau. Juil. 1897.

(2) Mazé : C. R. CXXVIII. 1608 et 1635.

(3) Duclaux : *Traité de Microbiologie*, t. III, p. 56.

(*A suivre*). ED. GRIFFON.

450 — Lille, imp. Le Bigot frères. Le Gérant: Th. Clerquin

Digitized by Google

OBSERVATIONS BIOLOGIQUES

SUR LA

VÉGÉTATION AUTOMNALE DES ENVIRONS D'ALGER

par M. MAIGE

Ayant eu l'occasion de passer l'été dernier à Alger, il m'a été possible de suivre en détail le réveil de la végétation qui se produit chaque année aux premières pluies de septembre, et de faire un certain nombre d'observations biologiques à ce sujet.

La période de grande sécheresse aux environs d'Alger s'étend de mai à septembre, il ne tombe que 22mm9 d'eau pendant les mois de juin, juillet, août, et la température, qui est en moyenne de 23°, n'est jamais inférieure à 19°, et s'élève parfois à 40° lorsque souffle le vent du sud (1). Pendant cette période la végétation est presque entièrement arrêtée, la plupart des plantes herbacées ont leurs tiges et leurs feuilles desséchées, et un certain nombre de végétaux ligneux (*Clematis cirrhosa*, *Calycotome spinosa*, *Anagyris fœtida*, *Lycium europæum*, etc.) perdent complètement leur feuillage. On n'observe comme plantes vertes que les végétaux à feuilles persistantes pendant toute l'année (*Rhamnus Alaternus*, *Pistacia Lentiscus*, *Rosa sempervirens*, *Rubus discolor*, *Rubia peregrina*, *Olea europæa*, *Quercus coccifera*, *Smilax mauritanica*, *Pinus halepensis*, etc.), ou quelques rares plantes herbacées à végétation annuelle, qui résistent à la sécheresse (*Conyza ambigua*, *Inula viscosa*, *Scolymus hispanicus*, *Helminthia echioides*, *Heliotropium europæum*, etc.).

Dès les premières pluies de septembre, on assiste à tout un réveil de la végétation, qui se manifeste par les phénomènes suivants :

1° Un certain nombre de plantes qui ont fleuri au printemps ou au commencement de l'été refleurissent de nouveau ; cette *deuxième floraison* peut se produire de différentes manières.

a) De nouvelles fleurs peuvent se développer à côté des anciennes, sur l'inflorescence primitive dont elles modifient plus ou

(1) Thevenet : *Essai de climatologie algérienne.*

Digitized by Google

moins l'architecture (*Dianthus serrulatus*, *Silene inflata*, *Linum corymbiferum*, *Eryngium tricuspidatum*, *Scabiosa maritima*, *Carlina racemosa*, *Tolpis altissima*, *Helminthia echioides*, *Lactuca saligna*, *Chlora grandiflora*, *Erythræa pulchella*, *Verbascum sinuatum*).

b) Il peut se développer sur la souche, ou la partie inférieure de la tige, des rejets feuillés qui fleurissent à leur extrémité (*Linum corymbiferum*, *Lavatera cretica*, *Hypericum tomentosum*, *Potentilla reptans*, *Asteriscus maritimus*, *Pallenis spinosa*, *Centaurea sphærocephala*, *Hyoseris radiata*, *Andryala integrifolia*, *Trachelium cœruleum*, *Chlora grandiflora*, *Convolvulus althæoides*, *Verbascum sinuatum*, *Lavandula multifida*, etc.) Ces rejets ont, par rapport aux rameaux de printemps, des fleurs généralement moins nombreuses, et parfois plus petites (*Andryala integrifolia*, *Chlora grandiflora*), et un appareil feuillé plus développé ; les bractées insérées le long des tiges florifères sont plus larges, et de forme moins différente de celle des feuilles (*Pallenis spinosa*, *Centaurea sphærocephala*, *Andryala integrifolia*). Il arrive parfois que c'est l'ancienne tige florifère, dont l'extrémité, arrêtée dans sa croissance par la sécheresse, continue son développement aux premières pluies, en produisant de nouvelles fleurs; c'est ce qui arrive dans les *Viola arborescens* et *Anagallis arvensis* ; cette dernière plante en particulier présente une pousse automnale contrastant nettement avec celle du printemps qu'elle prolonge, par les dimensions plus grandes de ses pédoncules floraux, de ses entrenœuds et de ses feuilles.

Dans les deux premiers groupes (*a* et *b*) dont nous venons de parler, on rencontre fréquemment des individus ayant l'aspect complètement desséché, que l'on est tout étonné de voir produire aux premières pluies de nouvelles fleurs. J'ai constaté que cette dessiccation n'était qu'apparente, et n'atteignait le plus souvent que l'épiderme et les assises superficielles de l'écorce ; dans certains cas cependant, la zone desséchée peut envahir en profondeur la moitié de la tige et même davantage, ne laissant qu'une petite partie vivante, sur laquelle se développent exclusivement les bourgeons de la *deuxième floraison*.

c) Il peut y avoir enfin formation de nouveaux pieds florifères, par une nouvelle germination suivie rapidement de floraison (*Geranium Robertianum*, *Andryala integrifolia*, *Chlora grandiflora*).

2° Les plantes herbacées qui se développaient pendant l'été, ont

Digitized by Google

au moment des premières pluies une forte poussée florale, par formation de nouvelles fleurs à côté des anciennes desséchées ou par production de rejets florifères.

3° Un certain nombre de végétaux ligneux à feuillage persistant, présentent une légère recrudescence d'activité végétative, qui se traduit par la formation de pousses d'un vert clair, se développant sur les rameaux du printemps, ou de rejets feuillés naissant à la base de la tige (*Rhamnus Alaternus*, *Pistacia Lentiscus*, *Opuntia Ficus-indica*, *Hedera Helix*, *Rubia peregrina*, *Olea europæa*, *Teucrium fruticans*, *Quercus coccifera* et diverses variétés d'Orangers et de Ficus) ; il est à remarquer que cette activité végétative ne se manifeste pas chez tous les individus, mais de préférence chez ceux qui sont de petite taille et situés dans des endroits ombragés et humides. Les pousses feuillées qui prolongent les rameaux du printemps contrastent fréquemment avec eux par les plus grandes dimensions de leurs entre-nœuds et de leurs feuilles.

4° Certaines plantes, dont le développement a été interrompu pendant l'été, achèvent leur évolution annuelle, c'est ce qui arrive en particulier pour les *Rubus discolor* et *Vinca major* ; ces deux plantes émettent au printemps des pousses verticales qui s'incurvent plus ou moins à leur extrémité, la croissance de ces pousses est complètement interrompue pendant les mois de sécheresse, et leur bourgeon terminal fréquemment détruit par le sirocco ; mais aux premières pluies, ces rameaux continuent leur évolution normale, c'est-à-dire retombent peu à peu vers le sol, et si le bourgeon terminal a été détruit il est remplacé par de nombreux bourgeons latéraux.

5° On voit se développer avec les premières pluies des plantes qui fleuriront pendant toute la saison pluvieuse (*Cheiranthus Cheiri*, *Alyssum maritimum*, *Capsella Bursa-pastoris*, *Calendula arvensis*, *Sonchus tenerrimus*, *Sonchus oleraceus*, *Linaria reflexa*, etc.) et en même temps apparaît toute une floraison de plantes spécialement automnales dont les plus répandues sont : *Ranunculus bullatus*, *Clematis cirrhosa*, *Bellis silvestris*, *Inula graveolens*, *Atractylis gummifera*, *Thrincia tuberosa*, *Cyclamen africanum*, *Scilla autumnalis*, *Urginea fugax*, *Asparagus albus*, *Smilax mauritanica*, *Leucoium autumnale*, *Narcissus elegans*, *Narcissus serotinus*, *Spiranthes autumnalis*. Parmi ces plantes quelques-unes sont en certains endroits très abon-

Digitized by Google

dantes et forment de véritables tapis, blancs pour l'*Alyssum maritimum* et le *Bellis silvestris*, jaunes pour le *Calendula arvensis* et le *Thrincia tuberosa*, mauves pour le *Cyclamen africanum*, bleus pour le *Scilla autumnalis*. Enfin, beaucoup de plantes herbacées qui fleuriront au printemps germent ou émettent de nouveaux rameaux feuillés.

Cette végétation automnale est en plein développement pendant le mois d'octobre, mais dès la fin du mois de novembre la poussée végétative des végétaux ligneux est arrêtée ou sensiblement ralentie, les plantes printanières à deuxième floraison ont disparu, et parmi les plantes automnales, les quelques espèces qui sont encore en fleurs comme les *Clematis cirrhosa*, *Thrincia tuberosa*, *Bellis silvestris* sont en pleine décroissance; par contre on voit apparaître de nouvelles fleurs que l'on n'observe qu'au printemps dans le midi de la France (*Ficaria grandiflora*, *Fumaria capreolata*, *Erodium moschatum*, *Anagyris fœtida*, *Bellis anna*, *Crepis taraxacifolia*, *Vinca major*, *Narcissus Tazetta*, *Arisarum vulgare*, etc.).

Si l'on compare l'époque de floraison des plantes exclusivement automnales des environs d'Alger (voir 5e groupe) avec celle des mêmes espèces dans le midi de la France, on constate qu'il y a environ un mois de différence. En France ces plantes fleurissent en août, septembre, et en Algérie en septembre, octobre. Ce fait trouve facilement son application dans la différence des conditions climatologiques de ces deux régions. Dans le midi de la France, la recrudescence des pluies qui se produit au mois d'août, détermine la reprise de la végétation, tandis que les environs d'Alger sont encore à cette époque en pleine sécheresse et ne commencent à voir éclore leur floraison automnale qu'au moment des pluies de septembre.

D'autre part, ainsi qu'il a été indiqué plus haut, la floraison de certaines espèces printanières commence, aux environs d'Alger, dès la fin de novembre, présentant ainsi une avance de plusieurs mois sur celle du midi de la France. Il résulte de ce fait, et du retard de la reprise de la végétation automnale, que les floraisons de l'automne et du printemps, séparées dans le midi de la France par une période de repos dans la végétation, sont ici tout à fait en continuité.

Digitized by Google

RECHERCHES

SUR QUELQUES RÉACTIONS DES MEMBRANES LIGNIFIÉES

par M. L. GÉNEAU de LAMARLIÈRE.

Au cours de recherches entreprises sur les propriétés chimiques des membranes cellulaires qui ont subi la lignification, j'ai été amené à faire l'examen critique de divers procédés employés pour colorer ces membranes et dont l'interprétation me paraissait erronée. Je m'occuperai surtout dans cette note d'une technique nouvelle préconisée par Mäule (1) et de la double coloration des coupes par le carmin aluné de Grenacher et le vert d'iode.

Sous le nom de *lignine*, quelles que soient les discussions auxquelles on peut se livrer sur la nature et la manière d'être de cette substance dans la membrane, j'admettrai le composé ou la série de composés qui donnent les réactions suivantes : *rouge* avec la phloroglucine et l'acide chlorhydrique, *violette* avec l'orcine en solution dans l'acide chlorhydrique, *jaune* avec le sulfate d'aniline. Dans le présent travail je considère le terme de lignine comme synonyme du nom de *vasculose* créé par Frémy et Urbain.

Chapitre Premier

RÉACTION DE MAULE

Voici en quoi consiste la réaction très intéressante obtenue par cet auteur. On laisse séjourner les matériaux d'études pendant cinq minutes environ dans une solution de permanganate de potassium à 1 °/₀. Après un lavage à l'eau, on traite les coupes par l'acide chlorhydrique étendu, jusqu'à décoloration complète ; on lave soigneusement à l'eau, puis, toute trace d'acide chlorhydrique

(1) Mäule : *Das Verhalten verholzter Membranen gegen Kaliumpermanganat, eine Holzreaction.* (Funfstück's Beiträge zur wiss. Botanik. 1900, Bd. IV, p. 166).

Digitized by Google

étant disparue, on monte les coupes encore humides dans une solution d'ammoniaque, ou bien on les expose simplement aux vapeurs de l'alcali sur le goulot du flacon. On obtient alors sur les parois lignifiées seulement une magnifique coloration rouge, comparable à celle de la fuchsine ammoniacale, ou mieux encore à celle de la phloroglucine acide.

Cette réaction est facile à obtenir : mais à quelle substance faut-il l'attribuer? Y a-t-il dans les membranes lignifiées un composé ignoré jusqu'à ce jour et que le procédé de Mäule mettrait en évidence? C'est l'opinion de l'auteur, mais je ne puis me ranger d'une façon absolue à son avis, et j'ai été conduit à me faire une idée différente à la suite de l'examen critique du procédé, pris point par point.

I

D'abord *l'action du permanganate de potassium est-elle nécessaire?*

Il est un fait certain c'est que sur le frais, c'est-à-dire sur des coupes non soumises à l'action de cet oxydant, même si on emploie l'acide chlorhydrique concentré à 22° et l'ammoniaque liquide à 28°, on n'obtient aucune trace de coloration rouge. Ceci montre que dans la plante, à l'état naturel, la substance colorable n'existe pas, au moins telle qu'elle est mise en évidence par le nouveau procédé. L'action oxydante du permanganate la formerait aux dépens d'une des substances de la membrane lignifiée.

II

Peut-on remplacer le permanganate par un autre corps oxydant? Oui, mais on obtient dans ce cas des résultats variés.

Examinons d'abord l'action de l'*acide azotique fumant*. Ce réactif produit presque instantanément sur les membranes lignifiées une coloration jaune-brun qui s'affaiblit peu à peu à la suite d'un traitement prolongé. Les coupes soumises à l'acide azotique fumant pendant des temps variables, puis à l'acide chlorhydrique et à l'ammoniaque, se colorent en jaune, mais non en rouge. L'acide azotique ne peut donc remplacer efficacement le permanganate. Cependant la coloration jaune obtenue finalement, pourrait, à la rigueur, être considérée comme l'équivalent de la coloration rouge qui résulte de l'action du permanganate. Il est à remarquer que

Digitized by Google

plus le traitement à l'acide azotique a été prolongé, moins la coloration jaune obtenue est intense : après cinq jours on n'a plus qu'une teinte jaune très pâle (Noyer, etc.). Nous verrons aussi plus loin que l'action du permanganate doit être limitée comme temps.

L'*hypochlorite de potassium* additionné d'un peu de potasse caustique, conduit à un résultat identique, mais un peu plus net. C'est qu'en effet ce réactif ne colore point en jaune comme l'acide azotique les membranes lignifiées, et la teinte jaune d'or obtenue après les divers traitements exigés par le procédé de Mäule, est bien due uniquement à l'action finale de l'ammoniaque. Ici je ne puis douter d'avoir obtenu une réaction comparable à celle de Mäule. Remarquons encore en passant que plus on prolonge l'action de l'hypochlorite et plus on emploie des solutions concentrées, moins on obtient d'intensité dans la coloration finale; et des coupes de *Spartium junceum* ayant séjourné 24 heures dans une solution très concentrée d'hypochlorite fort chargée de potasse caustique, n'ont plus présenté de coloration.

Le *bichromate de potassium* en solution saturée ne m'a donné aucun résultat appréciable. Dans la plupart des cas je n'ai obtenu finalement aucune coloration, ou bien seulement des teintes jaune pale douteuses.

L'*acide chromique* conduit à un résultat qui se rapproche davantage de celui qu'on obtient avec le permanganate, si on a soin de ne pas trop prolonger son action. La solution à 1 °/₀ agissant pendant 5 minutes met les coupes dans un état tel que les membranes lignifiées présentent une légère coloration rouge avec l'ammoniaque. La solution à 5 °/₀ donne de meilleurs résultats. Cependant je n'ai pu réussir à obtenir une coloration aussi nette et aussi pure qu'avec le permanganate. La faute en est en grande partie à ce fait que l'acide chromique colore les membranes lignifiées en jaune sale, et que cette coloration persiste même après le lavage à l'acide chlorhydrique. L'action de l'ammoniaque se faisant ensuite sentir, on obtient la formation d'une teinte rouge; mais celle-ci est relativement faible et se superpose à la teinte jaune produite par l'acide chromique, de sorte qu'en fin de compte on n'obtient qu'un mélange de rouge et de brun.

Le *liquide de Hofmeister* (solution saturée de chlorate de potassium dans laquelle on verse de l'acide chlorhydrique étendu d'eau)

Digitized by Google

a une action oxydante beaucoup plus forte que les réactifs précédents. Si on ne verse que peu d'acide chlorhydrique dans la solution de chlorate, la réaction se fait lentement, et comme il y a peu de chlore mis en liberté, le liquide est jaune pâle. Dans ce cas, les coupes ne donnent avec le procédé de Mäule qu'une réaction finale jaune pâle. Mais si le liquide est riche en chlore libre, l'oxydation est plus forte, et on obtient à la fin une coloration rouge intense comme si l'on avait employé le permanganate. Il n'est même pas besoin de faire passer les coupes dans l'acide chlorhydrique étendu, après l'oxydation par le liquide de Hofmeister ; car l'acide chlorhydrique libre de ce dernier liquide suffit à mettre les coupes en état de se colorer par l'ammoniaque.

Ce réactif est même meilleur que le permanganate comme intensité et rapidité d'oxydation. En effet, dans les expériences précédentes je n'ai eu en vue comme matériaux d'études, que des tissus lignifiés appartenant aux Angiospermes.

Mais si on s'adresse aux Gymnospermes (en excluant les Gnétacées) et aux Cryptogames vasculaires, on n'obtient pas la réaction de Mäule en rouge avec les différents oxydants employés. La coloration finale est toujours jaune ou jaune brun, même avec le permanganate. Tout au plus obtient-on, en prenant des solutions concentrées de ce dernier sel et en les laissant agir longtemps, une coloration jaune brun virant légèrement au rougeâtre. Au contraire le liquide de Hofmeister donne assez rapidement, en cinq ou dix minutes, une réaction finale où la coloration rouge est beaucoup plus nette sans être toutefois bien pure. L'oxydation des composés justiciables de la réaction de Mäule est donc plus difficile à réaliser chez les Gymnospermes et les Cryptogames vasculaires que chez les Angiospermes et presque seul le liquide de Hofmeister l'opère à peu près convenablement.

Je n'ai pas expérimenté d'autre oxydant. Mais il suffit de savoir que le permanganate n'est pas indispensable au procédé. On peut le remplacer par le liquide de Hofmeister. L'acide chromique quoique moins convenable, peut lui être aussi substitué. Quant à l'acide azotique et à l'hypochlorite de sodium, leur action oxydante, quoique différente, peut vraisemblablement être mise en parallèle avec celle du permanganate.

Digitized by Google

III

Peut-on remplacer la réaction oxydante par une réaction réductrice ? Cette substitution ne me paraît pas possible. Je n'ai examiné que l'action du chlorure stanneux, qui se forme en attaquant l'étain métallique par l'acide chlorhydrique. Les coupes traitées pendant un temps plus ou moins long (un à deux jours) perdent toute leur lignine, mais ne présentent pas la réaction de Mäule. C'est donc bien une oxydation qu'il faut faire subir à la membrane, pour obtenir cette réaction.

IV

La durée du traitement par le permanganate et le titre de la solution influent-ils sur la réaction de Mäule ? En augmentant la durée du traitement par le permanganate et en employant des solutions de plus en plus concentrées, j'ai pu obtenir des colorations de plus en plus foncées. Toutefois, comme l'a fait observer Mäule, il est nécessaire de rester dans certaines limites, sous peine de ne plus obtenir de résultat. J'ai pu traiter par une solution à 10 % et pendant vingt-quatre heures des coupes de Noyer et retrouver au milieu des débris, en grande partie désagrégés, des fibres du liber ou du péricycle encore colorées en rouge faible.

Un fait à noter et que je considère comme important est le suivant : lorsque l'on s'est placé dans des conditions convenables pour obtenir une coloration suffisamment intense, on observe que la solution ammoniacale dans laquelle baigne la coupe, se colore en rouge pâle, parce qu'une partie de la substance colorable de la membrane entre en solution sous l'influence de l'ammoniaque et passe de la coupe dans le liquide ambiant. Or, si l'on se reporte à une note que j'ai publiée antérieurement sur la *Constitution du bois de Conifères des tourbières* (1), et surtout aux travaux de Frémy sur la vasculose, cités à ce propos, on verra que l'oxydation des membranes lignifiées par différents réactifs (acide nitrique, acide chromique, *permanganate de potassium*, chlore, hypochlorite, brome), amène la vasculose à un état particulier de composition (acides résineux selon Frémy), qui la rend soluble dans les alcalis. Il n'est pas possible de ne pas voir dans la substance colorable obtenue par Mäule un de ces états de la vasculose ou de la lignine oxydée (1).

(1) *Cf. Revue générale de Botanique*, t. XIV, 1902, p. 241.

Digitized by Google

Un certain nombre des faits suivants viendront d'ailleurs confirmer cette manière de voir.

V

L'emploi de l'acide chlorhydrique et les lavages à l'eau subséquents sont-ils nécessaires dans le procédé de Mäule ?

En ce qui concerne l'acide chlorhydrique, il faut répondre ici par l'affirmative. En effet, en supprimant ce réactif, non seulement on n'obtient pas de coupe claire, pour peu que les matériaux aient séjourné dans le permanganate, mais encore on n'arrive pas à produire la coloration cherchée. On peut indifféremment employer l'acide chlorhydrique pur à 22° ou étendu d'eau. Dans le premier cas il y a l'inconvénient pour l'opérateur d'avoir à respirer des vapeurs qui n'ont rien d'agréable ; aussi vaut-il mieux s'en tenir à l'acide étendu qui n'a pas cet inconvénient. Quant aux lavages à l'eau indiqués par Mäule, ils ne sont pas indispensables, et les coupes se colorent fort bien sans cela. Il est en effet naturel d'admettre que l'acide chlorhydrique libre, est rapidement combiné avec l'ammoniaque et j'ai constaté que le chlorure d'ammonium formé ne gêne nullement la réaction finale.

VI

Peut-on remplacer l'acide chlorhydrique par un autre acide ? En substituant l'acide azotique à l'acide chlorhydrique j'ai obtenu très nettement la réaction de Mäule. On n'arrive cependant qu'à des teintes moins rouges. On obtient le même résultat avec l'acide sulfurique étendu d'eau et la solution aqueuse d'anhydride phosphorique. Il en résulte que ce n'est pas à la nature des composants de HCl qu'est due la réaction, mais à ses propriétés acides. Il reste cependant à l'avantage de l'acide chlorhydrique que son action est plus rapide et plus complète et par là que son emploi est plus commode.

VII

La réaction de Mäule ne peut-elle s'obtenir en remplaçant l'ammoniaque par une autre base ? Ici encore on peut répondre par l'affirmative. Une solution faible de potasse ou de soude joue exactement le même rôle que l'ammoniaque. Celle-ci n'a donc pas d'importance par sa composition chimique, mais par sa nature alcaline.

Digitized by Google

On peut aussi remplacer l'ammoniaque par des solutions de divers sels d'ammoniaque, de soude ou de potasse, et ceci sans qu'on puisse dire qu'il y a eu décomposition du sel par l'acide précédemment employé. En effet, si on place directement (sans lavage à l'eau) des coupes traitées par HCl, dans une solution de carbonate de sodium, on observe pendant quelques instants une effervescence due à la mise en liberté de l'acide carbonique par la combinaison du chlore et du sodium. Mais tant que dure l'effervescence, on n'observe pas de coloration, celle-ci ne se produit qu'après la disparition de tout l'acide chlorhydrique libre. Si on a eu soin de faire disparaître toute trace d'acide libre par un lavage convenable à l'eau, on obtient une coloration immédiate dans le carbonate de sodium.

Un fait important à noter et qui vient confirmer ce qui a été dit plus haut à propos de l'action de l'ammoniaque, est celui-ci : lorsque l'on emploie des solutions de soude et de potasse assez fortes (10 °/o environ) la coloration rouge n'est que passagère. On voit bientôt la coupe se décolorer, mais le liquide tout autour se colore. Au microscope on constate que les parois des cellules sont alors gonflées fortement. Les solutions de soude et de potasse, comme celles d'ammoniaque, ont donc la propriété de dissoudre la substance colorable et ceci concorde encore avec l'action de ces bases sur les acides résineux de Frémy, provenant de l'oxydation de la lignine.

VIII

La réaction de Mäule s'applique-t-elle à toutes les membranes lignifiées ? Toutes les membranes lignifiées des Angiospermes qui ont été examinées jusqu'à ce jour présentent nettement la réaction de Mäule, même lorsque la lignification s'étend à une portion tout-à-fait infime de la paroi, comme, par exemple, les cadres de l'endoderme, les lames intercellulaires de certains lièges, les parois internes des stomates de l'*Ephedra distachya*, etc. On peut ajouter que seules les membranes lignifiées sont susceptibles de se colorer en rouge par la réaction de Mäule.

Il faut remarquer toutefois que la réaction ne paraît pas toujours se faire en raison directe de la lignification, au moins autant que cette dernière nous est révélée par l'intensité de la coloration à la

Digitized by Google

phloroglucine. Ainsi chez les Angiospermes, les parois des vaisseaux du bois primaire et du bois secondaire se colorent souvent par la phloroglucine en rouge plus intense que les tissus environnants : ces mêmes éléments s'oxydent plus difficilement que leurs voisins et il faut les laisser un certain temps dans la solution de permanganate pour arriver à les colorer nettement par l'ammoniaque.

D'autre part certaines fibres, comme celles que l'on rencontre dans le bois du Gui, se colorent en rose pâle par la phloroglucine; elles réagissent cependant tout aussi bien que les tissus voisins dans le procédé de Mäule.

Chez les Gymnospermes et les Cryptogames vasculaires, ainsi que je l'ai déjà dit, la réaction de la phloroglucine est très intense, bien qu'on obtienne difficilement la réaction de Mäule chez ces végétaux. Mais chez les Muscinées qui ne montrent jamais de traces de lignine, on n'obtient pas non plus de réaction colorée à la suite de l'action du permanganate.

Il semble donc que si toute membrane lignifiée est susceptible de subir la réaction de Mäule, elle ne la présente pas toujours proportionnellement à sa lignification au moins telle qu'elle nous est révélée par la phloroglucine. Ces faits avaient déjà été signalés en partie par l'auteur du procédé.

IX

Quel rapport y a-t-il entre la réaction de Mäule et celle de la phloroglucine ? — Il est un fait certain et facile à constater, ainsi que je l'ai dit plus haut, c'est que les membranes qui, *à l'état naturel*, présentent la coloration caractéristique de la lignine par la phloroglucine, ne présentent pas, à ce même état, la réaction de Mäule. Mais toutes les membranes lignifiées peuvent donner après oxydation par le permanganate de potassium et par quelques autres corps oxydants, une réaction identique ou parallèle à celle de Mäule. Cette dernière ne peut donc s'appliquer à la lignine normale. Peut-être est-ce à la lignine oxydée.

En procédant de la façon suivante on constate un fait très intéressant : si on traite parallèlement par la phloroglucine et par le procédé de Mäule des coupes d'une Angiosperme ligneuse, qui ont subi pendant des temps de plus en plus longs l'action de solutions de

Digitized by Google

plus en plus concentrées de permanganate, on constate que les colorations rouges obtenues dans les deux cas ont des intensités variant en sens inverse.

Plus on oxyde, moins on a de coloration avec la phloroglucine, et plus on a des réactions intenses avec l'ammoniaque. Le fait est absolument frappant, même à l'œil nu, lorsqu'on dispose côte à côte sur un papier blanc, les préparations parallèles, en ayant soin de choisir toutefois des coupes approximativement de même épaisseur. Il semble donc que ce soit à la lignine oxydée que s'adresse le procédé de Mäule.

X

Les membranes lignifiées ne contiennent pas seulement de la lignine, mais encore d'autres substances imprégnantes, des *sels minéraux*, de la *subérine*, de la *cutine*, des *substances azotées*, etc. Il pourrait se faire que la réaction de Mäule, eut pour substratum quelqu'une de ces substances qui accompagnent la lignine et qui se serait oxydée sous l'action du permanganate.

Il est peu probable que les *sels minéraux* puissent être mis en cause dans le cas présent.

La *subérine* ne paraît pas davantage devoir produire la réaction. En effet, dans le liège ordinaire, dont on se sert pour fabriquer les bouchons et provenant de végétaux du genre *Quercus*, j'ai constaté que la membrane, dans toute son épaisseur, se colorait en rouge par le Soudan III, grâce à la présence de la subérine. La phloroglucine ne m'a pas laissé voir de traces de lignine dans la lame intercellulaire des cellules, ainsi que cela a lieu pour d'autres lièges. Je n'y ai pas non plus obtenu la réaction de Mäule. Divers autres lièges sans lignine ont agi de même.

La *cutine* est dans le même cas que la subérine. Les cuticules sans lignine (c'est la majorité des cas), ont réagi comme les lièges sans lignine. Mais lorsque l'épiderme est à la fois lignifié et cutinisé comme chez les Graminées, les Fougères, etc., la cuticule réagit par le procédé de Mäule exactement comme le bois lui-même.

En ce qui concerne les *composés azotés*, les observations suivantes montrent qu'il est peu probable qu'ils servent de substratum à la réaction de Mäule. En effet, avant comme après le traitement au permanganate, les tissus lignifiés se colorent fortement par le brun

Digitized by Google

Bismarck et le bleu de méthylène ; l'alcool ne chasse ces colorants que tout à fait à la longue, et longtemps après que les tissus cellulosiques purs sont eux-mêmes décolorés.

Cependant si on prolonge suffisamment le traitement au permanganate, le brun Bismarck et le bleu de méthylène sont plus facilement chassés par l'alcool. Au début, les composés azotés ne paraissent donc pas fortement altérés par le permanganate, tandis que la lignine est déjà profondément attaquée et la réaction de Mäule apparaît simultanément d'une façon intense bien avant que les composés azotés paraissent se modifier.

Avant de pouvoir conclure, il me faut encore examiner quelques corps qui ont été extraits du bois en particulier par M. G. Bertrand (1). Les recherches de ce chimiste l'ont amené à cette conclusion que le bois des Angiospermes était formé par la cellulose, la vasculose de Frémy, une sorte de résine phénolique, le *lignol* (que l'auteur avait d'abord dénommée lignine) et d'une gomme de bois dite *xylane*, qui avait été isolée par Poumarède et Figuier, et ainsi dénommée par Allen et Tollens. Chez les Gymnospermes au contraire la xylane serait peu abondante et remplacée par une substance spéciale la *manno-cellulose*.

Remarquons d'abord que cette énumération est incomplète, que des composés pectiques, des sels, des minéraux, des composés azotés se trouvent aussi dans la membrane lignifiée. Nous en avons tenu compte précédemment.

Le procédé de M. Bertrand est simple et consiste en ceci : prenant des tissus lignifiés bien divisés, épuisés par l'eau tiède et l alcool bouillant, on les laisse macérer pendant 48 heures dans une lessive de soude à 2 °/o, à l'abri de l'air, en agitant fréquemment. De la sorte on obtient un liquide jaune, d'où l'on peut extraire la xylane et le lignol. D'autre part, les matériaux épuisés contiennent encore de la cellulose et en plus la vasculose de Frémy.

Prenant la méthode de M. Bertrand, et l'appliquant à des coupes de tiges de Noyer, de Vigne, de *Quassia amara*, de Pin silvestre, et de *Pteris aquilina*, je suis arrivé au résultat suivant. Les coupes

(1) G. Bertrand : *Recherches sur la composition immédiate des tissus végétaux* (C. R. de l'Acad. des Sciences, 1892, IIe sem., p. 1492) et *Sur la présence de la mannocellulose dans les tissus ligneux des plantes gymnospermes* (C. R. de l'Acad. des Sc., T, XXXIX, p. 1025, 1894).

Digitized by Google

se colorent encore très bien par le sulfate d'aniline, ce qui montre que la vasculose de Frémy a persisté dans les membranes lignifiées. Elles se colorent également bien par la phloroglucine acide, ce qui était à prévoir puisque les deux réactions sont concomitantes sur le frais et que nous admettons que la lignine est la même substance que la vasculose. Toutes les coupes aussi se colorent également bien en violet par la solution d'orcine dans l'acide chlorhydrique, et il n'y a pas de différence entre les teintes obtenues sur les coupes fraîches et sur les coupes traitées par la soude à 2 °/o. Ceci était facile à prévoir *à priori*, si on admet, comme je le fais, que cette dernière réaction caractérise la lignine au même titre que le sulfate d'aniline et la phloroglucine. Mais ce fait est en opposition avec l'assertion de M. Bertrand, qui attribue à la xylane la propriété de se colorer par l'orcine et l'acide chlorhydrique. Si cette assertion était vraie on ne devrait plus obtenir de coloration avec l'orcine, puisque la xylane devrait se trouver dans la solution de soude, au dire de l'auteur lui-même.

D'ailleurs, si l'orcine était le réactif de la xylane, les Gymnospermes qui, d'après les recherches de M. Bertrand, ne contiennent que des traces de xylane (remplacée ici par la manno-cellulose) ne devraient se colorer que très peu par ce réactif. Mais c'est le contraire qui arrive ; les trachéides des Pins, par exemple, se colorent d'une façon tout à fait intense par l'orcine, et même la coloration est ordinairement plus foncée que sur le bois d'un bon nombre d'Angiospermes. C'est ce qui arrive aussi avec la phloroglucine. Il me paraît beaucoup plus vraisemblable d'admettre que l'orcine, aussi bien que la phloroglucine et le sulfate d'aniline, est un réactif colorant de la lignine ou vasculose.

Il résulte de ce qui précède que le traitement à la soude n'a nullement délignifié les coupes.

Mais ces coupes présentent-elles encore la réaction de Mäule ? Oui, exactement comme sur le frais, avec la même intensité et la même difficulté pour arriver à un résultat pour les Gymnospermes et les Cryptogames vasculaires. La réaction de Mäule n'a donc comme substratum, ni le lignol, ni la xylane, puisque ces deux substances sont éliminées par le traitement de M. Bertrand et une fois de plus il semble que ce soit à la lignine oxydée qu'on doive attribuer cette réaction.

(A suivre).

Digitized by Google

SUR LE SIÈGE
DE
QUELQUES PRINCIPES ACTIFS DES VÉGÉTAUX
PENDANT LE REPOS HIVERNAL

par M. W. RUSSELL (1).

Il est aujourd'hui bien démontré qu'au cours de la végétation, les sucres, l'amidon, les corps gras, etc., peuvent abandonner les cellules où ils ont été élaborés pour se rendre dans certaines parties du corps des plantes où ils vont constituer des réserves susceptibles d'être utilisées plus tard au fur et à mesure des besoins vitaux. Pour les plantes de notre climat, c'est surtout pendant la période hivernale que l'on constate le maximum de concentration de ces réserves.

On ne sait encore que peu de choses sur la migration des alcaloïdes et des glucosides ; beaucoup de ces principes actifs sont d'ailleurs mal connus au point de vue chimique et les autres n'ont pour la plupart été l'objet que de localisations partielles qui n'ont pu nous éclairer suffisamment sur les conditions biologiques qui les régissent. Il a été cependant reconnu que la teneur en principes actifs diminuait d'une façon notable au moment de la reprise de la végétation dans les parties souterraines de quelques plantes comme l'Aconit, le Colchique et le Tamier (2), ainsi que dans les tiges aériennes du Lilas (3). Mais ce sont là des faits isolés qui n'ont d'ailleurs pas été le plus souvent contrôlés par des études microchimiques ; c'est pourquoi il m'a semblé intéressant de rechercher si une sorte de mise en réserve des principes actifs pouvait s'ob-

(1) Ce travail a été fait au Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences de Paris.

(2) Cornevin : *Des plantes vénéneuses et des empoisonnements qu'elles déterminent*. Paris, 1887.

(3) Petroz et Robinet : *Journal de Pharmacie*, X, p. 339.

Digitized by Google

server en hiver chez quelques-unes des plantes vénéneuses les plus répandues de la région parisienne.

Ce sont les résultats obtenus que je soumets dans la présente note où je me contente d'exposer les faits observés sans essayer actuellement d'en tirer une déduction (1).

Populine. — Glucoside des Peupliers précipité par l'acide phospho-molybdique et coloré en rouge violacé par l'acide sulfurique, en rouge jaunâtre par l'acide sulfurique concentré (2) et en jaune ochracé par l'acide sulfurique additionné d'une solution de bichromate de potasse. La populine est répartie dans toute l'écorce et le liber des racines ; mais dans les sièges elle se localise presque entièrement à la base des bourgeons où elle s'observe dans tous les tissus parenchymateux avec prédominance dans le liber et la zone périmédullaire. Les entre-nœuds n'en renferment que dans quelques cellules du liber, du péricycle et de la partie profonde de l'écorce.

Cytisine. — Alcaloïde des Cytises précipité par l'iodure de potassium iodé, l'acide picrique et l'acide phospho-molybdique (3) coloré en orangé par l'acide sulfurique additionné d'acide azotique, en rouge groseille par l'alcool sulfurique et en jaune orangé par le perchlorure de fer. La cytisine se trouve en faible quantité dans les racines (phelloderme et quelques éléments du liber), mais elle est abondamment répandue dans les tiges, surtout dans les rameaux à courts entre-nœuds d'où naissent les inflorescences ; l'alcaloïde se montre dans tous leurs tissus avec prédominance dans le liber et la moelle. Les rameaux ordinaires emmagasinent la cytisine surtout dans le liber et la zone périmédullaire. Les graines sont très riches en cytisine.

Syringine. — Glucoside du Lilas (*Syringa vulgaris*) précipité

(1) *Quelques-uns des principes actifs étudiés ont déjà été l'objet de recherches microchimiques, d'autres au contraire n'ont jusqu'à présent pas été localisés ; pour les uns comme pour les autres j'ai eu recours aux réactions indiquées par les Chimistes ; en outre je me suis efforcé dans la mesure du possible d'employer pour chaque principe des réactifs colorants et des réactifs produisant des précipités. Dans toutes mes recherches j'ai effectué le contrôle par l'alcool tartrique d'Errera.*

(2) Dragendorf : *Manuel de Toxicologie*, p. 202.

(3) Rossoll : Beitrage zur Histochimie der Pflanzen (Sitz. Akad. de Wiss. de Wien, 1884).

Digitized by Google

par l'acide phospho-molybdique, coloré en bleu virant au violet pourpre par l'acide sulfurique concentré et le réactif de Mandelin et en rouge carmin par l'alcool sulfurique à chana. La racine est particulièrement riche en syringine (le maximum de concentration se remarque dans le liber et l'écorce interne) ; pour les tiges, c'est au niveau des nœuds que s'accumule le glucoside — dans les entre-nœuds on n'en rencontre qu'au voisinage de l'anneau ligneux.

Fraxine. — Glucoside du Frêne (*Fraxinus excelsior*) précipité par l'acétate de plomb ammoniacal, coloré en jaune d'or par la potasse (1), en jaune citrin par l'ammoniaque.

Comme la syringine, la fraxine se concentre dans les tiges au niveau des nœuds et dans tous les tissus parenchymateux des racines.

Ligustrine. — Glucoside du Troène (*Ligustrum vulgare*) (2) précipité par l'acide phospho-molybdique, coloré par l'acide sulfurique et le réactif de Mandelin en bleu virant au violet pourpre, par le réactif de Frœhde en rougeâtre (3) et par le réactif de Back légèrement chauffé en purpurine.

Les feuilles demi persistantes du Troène contiennent de la ligustrine dans leur méristèle jusqu'à la fin de l'automne, le glucoside disparaît ensuite pour faire place à un tannoïde ou à un pigment. Les tiges souterraines et les racines ne renferment de la ligustrine en quantité notable qu'au voisinage immédiat de l'anneau ligneux. Il en est de même pour les tiges aériennes dans les régions internodales; au niveau des nœuds il y a accumulation du principe dans tout le liber, la partie profonde de l'écorce et quelquefois la zone périmédullaire. Les parois des vaisseaux aussi bien dans les tiges que dans les racines sont fréquemment incrustées de ligustrine. Ce phénomène s'observe également chez le Lilas pour la syringine.

Dulcamarine. — Glucoside de la Douce-amère (*Solanum Dulcamara*) précipité par l'acide phospho-molybdique, coloré en orangé

(1) Guérin : *Recherches sur la localisation de l'anagyrine et de la cytisine* (Bulletin de la Soc. Bot. de France, 1895, pp. 428-433).

(2) Beilstein Handbuch.

(3) Pour Wurtz, la ligustrine est un principe analogue à la syringine.

Digitized by Google

virant au rouge groseille par le réactif de Mandelin. La dulcamarine abandonne à l'automne les extrémités flétries des tiges pour se porter dans les régions persistantes; au niveau des premiers bourgeons elle ne s'observe que dans le liber et le phelloderme, plus bas elle envahit tous les tissus. C'est dans la racine que la concentration atteint son maximum.

Ononine. — Glucoside de l'*Ononis spinosa* et de l'*Ononis Natrix* précipité par l'acétate de plomb, coloré en rouge cerise magnifique virant au grenat par le réactif de Frœhde. L'ononine émigre complètement des rameaux aériens pour s'accumuler à la base de la tige et surtout dans la racine. L'emmagasinement s'effectue particulièrement dans les grands rayons et lorsque ceux-ci sont étroits, c'est le parenchyme cortical le plus riche.

Conicine. — Alcaloïde de la Grande Ciguë (*Conium maculatum*) précipité par l'iodure de potassium ioduré et par l'acide phosphomolybdique (le précipité obtenu est colorable en bleuâtre par l'ammoniaque).

La conicine s'accumule dans la racine particulièrement dans les grands rayons et l'écorce externe; les feuilles radicales persistantes en contiennent en faible quantité dans leur méristèle.

Saponine. — Glucoside de la Saponaire (*Saponaria officinalis*) du Lychnide dioïque (*Lychnis dioica*), etc. Précipité par le tanin et colorable en violet pourpre par l'acide sulfurique concentré et le réactif de Raspail. Chez la Saponaire le glucoside s'accumule dans les tiges souterraines, particulièrement dans la moelle très développée; le liber et l'écorce en contiennent un peu moins. Chez le Lychnide la concentration du glycoside s'effectue dans tout le tissu parenchymateux de la racine pivotante et de ses ramifications.

Convolvuline. — La convolvuline, glucoside du grand Liseron (*Convolvulus sepium*), colorable en orangé virant au rouge groseille par l'acide sulfurique concentré, s'observe dans tout le parenchyme des tiges souterraines. C'est dans les libers et à la périphérie de l'écorce, qu'on la rencontre en plus grande abondance.

Principes actifs du Muguet. — Les principes actifs du Muguet précipitent en jaune par l'acide phospho-molybdique et sont colorés en rouge virant au violet sombre par l'acide sulfurique.

Digitized by Google

Ces principes se concentrent dans le parenchyme des rhizomes, la stèle en contient généralement davantage que l'écorce ; c'est dans le liber qu'on en constate le plus.

Aconitine. — Alcaloïde de l'Aconit Napel, précipite par le tanin, l'acide phospho-molybdique et l'iodure de potassium ioduré, et est coloré en rouge carmin par l'acide sulfurique et en violacé par l'acide phosphorique à chaud (1).

L'Aconitine s'accumule en quantité considérable dans tout le parenchyme des racines et des tubercules radicaux ; elle disparaît totalement des tubercules flétris des années précédentes.

Principes actifs de la Linaire vulgaire. — La Linaire vulgaire (*Linaria vulgaris*) renferme un principe vénéneux non encore étudié (2) et dont on peut déceler la présence à l'aide du réactif de Back qui colore en orangé clair et du réactif de Mandelin qui donne une teinte rouge orangé très belle. Ce principe localisé dans l'épiderme des tiges et des feuilles se rend après la floraison dans le liber, puis émigre peu à peu dans les parties souterraines et dans l'albumen des graines. Le maximum de concentration s'effectue dans le liber et l'écorce externe des organes souterrains.

Principes actifs de la Digitale pourpre. — Certains principes actifs de la Digitale pourpre peuvent précipiter par l'acétate de plomb ammoniacal et le tanin (3).

On obtient un abondant précipité dans le parenchyme ligneux, le liber, le péricycle, l'endoderme et l'écorce interne des racines. Dans les courts rameaux nés à l'aisselle des feuilles radicales la localisation s'effectue surtout dans le liber et la zone périmédullaire. L'épiderme et l'écorce contiennent un pigment rose qui devient orangé vif en présence de l'acide sulfurique concentré ; par addition d'eau la coloration orangé disparaît et on retrouve la teinte rose primitive. Ce pigment existe également dans l'écorce de la racine et le mésophylle des feuilles.

(1) Errera, Maistreau et Clautriau : Annales de la Soc. Belge de Microscopie, 1885-1886.

(2) Cornevin.

(3) D'après Dragendorf (*Manuel de Toxicologie*, pp. 418-419), le tanin et l'acétate de plomb ammoniacal précipitent la digitaleine et la digitonine, mais non la digitaline.

Digitized by Google

Principe actif de la Jacinthe. — La Jacinthe (*Hyacinthus orientalis*) renferme dans ses bulbes un principe qui est précipité par le tanin et l'acide picrique et que l'on peut colorer en rouge brun clair par l'alcool sulfurique et en rouge par l'acide sulfurique concentré. Les écailles voisines du centre du bulbe sont moins riches en principe actif que celles de la périphérie qui en contiennent abondamment dans toutes leurs cellules; les feuilles du centre, pendant la vie latente du bulbe, n'en renferment que dans leurs faisceaux. A la reprise de la végétation, le principe actif se concentre à l'extrémité des jeunes racines et dans les feuilles en voie de croissance. Lorsque les feuilles ont atteint une certaine longueur, le principe actif semble disparaître complètement.

Dans le bulbe des Scilles se trouvent également des principes actifs qui offrent la même localisation que celui des Jacinthes.

En résumé, il semble résulter de ces recherches que les principes actifs de certaines plantes peuvent, comme les matières dites de réserve, être susceptibles d'une mise en dépôt pendant le repos de la végétation.

Chez les plantes dont la vie aérienne est éphémère, ces corps s'accumulent dans les parties souterraines. Chez les plantes à tige aérienne persistante, la concentration s'effectue au voisinage des bourgeons et fréquemment aussi dans les organes souterrains.

Digitized by Google

RECHERCHES CYTOLOGIQUES

SUR

LES LEVURES

par M. A. GUILLIERMOND (*Fin*).

(PLANCHES 1 A 9).

V. — CORPUSCULES MÉTACHROMATIQUES

Nous avons assimilé les corps réfringents que nous avons rencontrés en si grande abondance dans les vacuoles des moisissures ou des levûres aux grains rouges de Bütschli et aux corpuscules de Babès. Nous pensons qu'il n'est pas inutile, en terminant cette étude, d'insister sur les caractères de ces corps qui ont été très diversement considérés et, sous des noms différents, ont occasionné de si nombreuses controverses.

A. *Historique*. — Ces corps ont été observés pour la première fois chez les Bactéries par A. Neisser (1888) et peu de temps après par Ernst (1888-1889). Ce dernier, les ayant étudiés dans des espèces asporogènes, les avait d'abord considérés comme des organes équivalents à des spores. Dans un second travail, il les retrouve dans des Bactéries sporogènes, et croit remarquer que les spores de ces organismes résultent de leur fusion, d'où le nom de *grains sporogènes* qui leur a été donné.

Babès (1889-1895) a différencié ces mêmes corps dans le Bacille de la Diphtérie : hésitant à en faire de véritables noyaux, il les désigne sous le nom de *corpuscules métachromatiques* en raison de leur métachromasie.

En même temps (1) un nombre considérable d'observateurs les ont signalés chez les Bactéries et les ont considérés soit comme des

(1) Pour la bibliographie de cette question, consulter : Guilliermond, *Recherches cytologiques sur les levûres*.

Digitized by Google

grains de chromatine disséminés dans le cytoplasme, soit comme des noyaux très simples. Quelques auteurs, ayant remarqué que leur position dans la cellule et leur nombre varient suivant les espèces, avaient même proposé de les utiliser comme caractère dans la détermination des espèces (1).

Bütcchli (1896-1896) a consacré de longues études sur ces corpuscules et a montré qu'ils étaient très répandus dans les micro-organisnes (Algues, Protozoaires). Il ignore leur signification. Leur propriété de se colorer en rouge par un grand nombre de colorants, les lui ont fait désigner sous le nom de *grains rouges*.

Lauterborn (1896) les a retrouvés dans les Diatomées. Il les considère comme des produits de réserve et les compare par leurs propriétés de se colorer à l'état vivant par le bleu de méthylène aux physodes de Crato et aux karyoides de Palla.

Kunstler et Busquet (1897) les ont observés dans beaucoup de Protozoaires et de Bactéries et pensent qu'ils résultent simplement d'un phénomène de diffraction sans présenter aucune valeur morphologique commune.

Matruchot et Molliard (1900) constatent leur présence dans le *Stichococcus bacillaris*.

Un grand nombre d'observations ont été publiées dans ces derniers temps sur les corpuscules métachromatiques. Tout dernièrement, les médecins allemands s'en sont beaucoup préoccupés. H. Marx et Woithe (1900-1902) ont entrepris de nouvelles recherches sur le rôle de ces corps et ont cru pouvoir en retirer des conséquences pratiques. Ils les considèrent comme des grains de chromatine qui naîtraient à certains stades du développement des Bactéries, par suite d'une condensation de la chromatine diffuse dans le cytoplasme. Cette condensation ne s'effectuerait que lorsque les cellules seraient en pleine vigueur et la présence de ces corpuscules serait un signe de la haute intensité vitale des Bactéries. Ils remarquent, en outre, un rapport constant entre cette présence des corpuscules métachromatiques et la virulence, et proposent de les utiliser comme critérium du degré de virulence des Bactéries.

(1) *La réaction* dite *de Ernst - M. Neisser* (coloration au bleu de méthylène et au brun de Bismarck), s'emploie couramment pour différencier le Bacille de la Diphtérie des Bacilles de Pseudo-Diphtériques, le premier renferme des corpuscules métachromatiques, les derniers n'en contiennent pas.

Digitized by Google

Plus récemment encore, Ernst (1902) a repris ses recherches sur la structure des Bactéries et considère désormais les corpuscules métachromatiques comme des *plasmosomes* au sens de Altmann et Arnold.

Dans les Champignons, les corpuscules métachromatiques sont restés jusqu'ici fort mal connus. Bütschli les a entrevus dans divers Champignons mycéliens. Maire et Guégen les ont signalés dans certaines moisissures. Quelques observateurs paraissent les avoir observés dans divers Champignons sans avoir eu l'idée de les comparer aux corpuscules des Bactéries (Hartog, Biffen). Dans les levûres, ils ont été considérés, comme nous avons vu, soit comme des grains de chromatine, soit comme des matériaux de réserve, soit comme des produits de dégénérescence. Tokishige les a observés dans une levûre pathogène et les a pris pour des spores. Seul, Raum a eu l'idée de les rapprocher des grains sporogènes de Ernst.

B. *Action des colorants.* — Ces corps possèdent comme caractères essentiels de se colorer à l'état frais, par le bleu de méthylène, comme l'a montré Lauterborn, enfin, de fixer d'une manière intense les colorants et de prendre avec la plupart, une nuance rouge foncée ou violacée. A l'origine, ils apparaissent comme de très petites granulations vivement colorées, plus tard ils se fusionnent entre eux et prennent des dimensions relativement grandes : les plus gros se montrent alors sous forme de grosses boules sphériques, rarement ovales, constituées d'une enveloppe très colorée et d'un centre beaucoup plus pâle ; quelquefois leur contour est irrégulier et cette irrégularité paraît occasionnée par une fusion récente de plusieurs de ces corpuscules ; souvent même, on observe des groupements de petits granules assemblés les uns autour des autres et se disposant à se fusionner (Pl. 9, fig. 2 et 20). Ces colorations s'effectuent très rapidement et précèdent presque toujours celles du noyau et du cytoplasme. Toutefois, elles peuvent être facilement entravées par certaines influences ; c'est ainsi qu'il suffit de fixer les cellules par l'acide osmique ou l'acide picrique (1) pour

(1) Cette absence de coloration des corpuscules métachromatiques ne peut pas s'expliquer par la dissolution provoquée par ces substances, car ils persistent toujours après la fixation et s'aperçoivent à l'état de corps réfringents.

Digitized by Google

empêcher presque complètement la coloration des corpuscules métachromatiques, même lorsqu'on a soumis les cellules ainsi traitées à un lavage prolongé.

Les colorations au bleu de méthylène (solution de bleu de méthylène à 1 p. °/o, bleu de Erlich) sont sujettes à de fréquentes variations qui peuvent exposer à certaines erreurs. On obtient des teintes qui varient entre le bleu foncé (Pl. 9, fig. 20, 21 et 22), le violet et le violet rouge sombre ; le plus souvent elles sont bleu foncé, légèrement violet ou violet foncé. La couleur violette ou rouge est toujours beaucoup plus manifeste dans les corpuscules qui atteignent de certaines dimensions que dans les petits ; les premiers laissent presque toujours distinguer une enveloppe violet foncé et un centre qui prend souvent une nuance rouge pâle (Pl. 9. fig. 20, 21) ; les plus petits se colorent au contraire en bleu ou bleu violet foncé, mais il suffit souvent de soumettre les préparations à un léger écrasement pour qu'ils apparaissent tous avec une teinte d'un violet rougeâtre.

Dans les stades de dissolution de ces corpuscules, leur matéchromasie s'accentue : ils diminuent de taille et de nombre ; on ne les aperçoit plus que sous forme d'un grand nombre de petites ponctuations d'un violet rougeâtre, englobées d'une substance paraissant liquide qui prend une teinte rouge pâle. La couleur paraît donc devenir beaucoup plus franchement rouge à mesure qu'ils se dissolvent.

A quoi tiennent ces variations ? Sont-elles dues à une différence de condensation de la substance de ces corpuscules métachromatiques, celle-ci étant plus condensée à la périphérie qu'au centre et devenant de moins en moins condensée au moment de la dissolution ? Proviennent-elles au contraire de variations chimiques que subirait cette substance dans les différents stades de leur développement ? ou doit-on les attribuer à la présence dans ces corpuscules de deux substances dont l'une localisée surtout au centre serait plus métachromatique ? Il ne nous est pas possible de nous prononcer pour l'instant.

On observe des variations analogues dans les colorations au vert de méthyle.

L'hématoxyline et l'hémalun produisent au contraire des colorations constamment rouges ; la paroi des corpuscules prend une

Digitized by Google

teinte rouge sombre, le centre est souvent rouge pâle (Pl. IX, fig. 2, 3, 4. 5, 6, 13, 15, 17, 18, 19); il en est de même d'un certain nombre d'autres colorants (*violet de gentiane*, *bleu polychrome*, *bleu de tolluidine*).

Le tableau ci-dessous nous indique les caractères des corpuscules métachromatiques vis-à-vis des principales matières colorantes.

COLORANTS.	CORPUSCULES MÉTACHROMATIQUES
Hématoxyline de Böhmer et de Delafield	Coloration rouge pâle au début devenant rouge sombre si l'on prolonge le contact.
Hémalun	Idem.
Hématoxyline de Heidenhain	Coloration noir foncé disparaissant avant celle du noyau par l'alun de fer.
Carmin	Légère coloration rouge.
Safranine	Idem.
Violet de gentiane	Coloration rouge.
Vert de méthyle	Coloration variant du vert foncé au bleu foncé et au violet.
Bleu de méthylène	Coloration variant entre le bleu foncé, le violet et le rouge sombre.
Bleu polychrome d'Unna.	Coloration rouge vif.
Bleu de tolluidine	Idem.
Brun de Bismarck	Coloration brun foncé (à chaud).
Fuchsine	Coloration rouge foncé.
Rouge de Magenta	Idem.
Nigrosine	Légère coloration noire.
Eosine	Pas de coloration.
Rouge de Congo	Idem.
Mélange de bleu de méthylène et de brun de Bismarck	Coloration brun foncé des corpuscules, le cytoplasme prend une teinte jaunâtre

On voit qu'un grand nombre de colorants donnent à ces corpuscules des colorations métachromatiques rougeâtres ou violettes Ce tableau était utile pour essayer de discuter la question de cette métachromasie.

Nous avons vu que certains auteurs (Kunstler et Busquet) considèrent ces corps comme dus à des phénomènes physiques : certaines particules du cytoplasme seraient le siège de phénomènes

Digitized by Google

de diffraction qui se produiraient sous l'influence des matières colorantes et donneraient des teintes rouges ; beaucoup de réactifs chimiques seraient aussi capables de provoquer des colorations rougeâtres ; ces corps n'existeraient qu'en apparence.

D'autres, tels que Massart, attribuent cette métachromasie à des impuretés des matières colorantes : le bleu de méthylène contiendrait du rouge de méthylène qui se fixerait sur les corpuscules métachromatiques.

La première de ces explications, soutenable quand il s'agissait de très petits organismes tels que les Bactéries, ne l'est pas lorsqu'on a affaire à des cellules d'une certaine dimension comme les levûres et surtout les moisissures dans lesquelles ces corpuscules sont nettement visibles à l'état frais et peuvent atteindre des dimensions de 2 à 5 μ. Le fait de leur individualité n'est donc pas discutable, pas plus que celui de leur coloration ; le tableau précédent montre d'ailleurs que cette coloration n'est pas toujours rouge (hématoxyline de Heidenhain, nigrosine, bleu de méthylène et vert de méthyle dans certains cas).

Mais à cette coloration se joindrait-il des phénomènes de diffraction ? Nous avons essayé l'action d'un grand nombre de réactifs chimiques sans jamais obtenir de phénomènes de diffraction, contrairement à ce qu'avaient remarqué Kunstler et Busquet. En outre, lorsque l'on fait varier le point de l'objectif, la couleur rouge de ces corpuscules se conserve sans jamais subir aucune modification. Il ne semble donc pas qu'on puisse faire intervenir des phénomènes de diffraction ; comme, d'autre part, la présence d'une impureté des matières colorantes ne suffirait pas à expliquer, qu'avec des colorants très divers, on obtienne toujours ces colorations rouges, nous pensons qu'il s'agit d'un phénomène d'ordre chimique, bien que nous ne connaissions jusqu'ici aucune substance qui puisse virer au rouge avec le bleu de méthylène (1).

C. *Action des réactifs chimiques.* — Nous avons cherché à obtenir quelques renseignements sur la nature de ces corps ; nous nous sommes d'abord assuré qu'ils ne possédaient aucun des caractères de la nucléine. Les dissolvants de la nucléine les laissent intacts,

(1) Les mastzellen prennent également une coloration rouge violet avec le bleu de méthylène (Voir Henneguy, Leçons sur la cellule, p. 241).

Digitized by Google

mais leur font perdre leur propriété de se colorer, ce qui explique que certains auteurs, n'ayant pas réussi à les différencier après ce traitement, aient cru observer leur disparition,

L'iodo-iodure de Gram les colore légèrement en jaune ; le réactif de Millon qui donne au cytoplasme une coloration rose, ne paraît pas avoir d'action sur eux. La pepsine leur enlève leur affinité pour les matières colorantes, mais ne semble pas les digérer; ce résultat est d'accord avec certaines observations récentes de R. et W. Albert. Ces auteurs ayant découvert un procédé pour tuer les cellules de levûres sans altérer leurs diastases, trouvent dans le S. *cerevisiæ*, une enzyme protéolytique d'une très grande énergie. En plaçant les cellules de levûres tuées à l'aide de ce procédé dans l'eau distillée à 25°, cette enzyme digère toutes les substances albuminoïdes contenues dans les cellules; ils colorent ces dernières à tous les stades du phénomène et constatent dans le cytoplasme des granules très colorables, correspondant aux corpuscules métachromatiques qui résistent à l'enzyme.

Lauterborn a rapproché les corpuscules métachromatiques des physodes de Crato, qui, d'après cet auteur, renfermeraient surtout de la phloroglucine. Les réactions indiquées par Crato et, entre autre, la vanilline dissoute dans l'acide chlorhydrique ne nous ont jamais montré aucun indice de la présence de cette substance. D'un autre côté, le fait qu'ils se colorent à l'état vivant par le bleu de méthylène, ne paraît pas suffisant pour établir une liaison entre ces deux sortes de corps.

Les autres réactifs ne nous ont apporté aucun résultat positif; nous n'avons donc pas pu nous renseigner sur la nature de ces corps. Ces réactions sont d'ailleurs fort délicates et on ne saurait leur attribuer une trop grande importance lorsqu'il s'agit d'organismes aussi petits.

D. *Variations dans les cultures.*— Nous avons essayé de recueillir quelques données sur cette question par l'examen histologique de cultures de *Dematium* (*species*) provenant de milieu de composition chimique variée (liquide Raulin complet — liquide Raulin sans azote, liquide Raulin sans substances organiques). Ces expériences restèrent sans résultats. Le *Dematium* cultivé sur liquide Raulin complet fournissait une grande abondance de corpuscules méta-

Digitized by Google

chromatiques et celui qui était ensemencé sur les liquides sans azote ou sans substances organiques en donnait également, mais en très faible quantité. Il nous a semblé dans certains cas que ces corpuscules étaient peut-être légèrement plus nombreux dans les milieux azotés que dans les milieux dépourvus d'azote.

E. *Rôle.* — On a beaucoup discuté sur le rôle de ces corps. En dehors des nombreux auteurs qui les ont confondus avec des grains de chromatine, il en est quelques-uns qui les ont pris pour des produits de dégénérescence, très peu les ont considérés comme des matériaux de réserve (Lauterborn).

L'ensemble de nos observations paraît cependant leur attribuer définitivement ce rôle : la manière dont ils se comportent dans le développement végétatif, la dissolution qu'ils subissent avant la formation des spores et leur absorption par les spores, tout est d'accord avec cette opinion.

Les colorations au bleu de méthylène nous donnent sur ce point de très intéressants renseignements : lorsqu'on traite un fragment de mycelium du *Dematium* (*species*) avec ce colorant, on aperçoit outre les parties dans lesquelles le cytoplasme se teint en bleu et dont les vacuoles renferment un grand nombre de corpuscules métachromatiques, certains endroits où les corpuscules sont rares et où tout le cytoplasme prend une couleur violette comme si les corpuscules s'étaient dissous et imprégnaient le cytoplasme (Pl. IX, fig. 20). Nous avons observé des phénomènes semblables dans les têtes fructifères d'*Aspergillus* et de *Penicillium* qui prenaient tout entières de colorations violettes avec le bleu de méthylène. De même dans les levûres soumises à l'inanition dans l'eau distillée, on remarque une diminution progressive des corpuscules métachromatiques, tandis que les cellules tout entières prennent une couleur violacée. Ces faits doivent être rapprochés des phénomènes de dissolution que nous observons au moment de la sporulation.

Ajoutons que nous avons eu l'occasion de rencontrer, dans l'épiplasme de certains *Ascobolus*, une très grande abondance de corpuscules métachromatiques qui avec le glycogène constituait la majeure partie de sa substance.

Il paraît donc y avoir beaucoup de raisons de considérer les corpuscules métachromatiques comme des matériaux de réserve

Digitized by Google

ou au moins comme des produits ayant un rôle important dans la nutrition.

VI. — CONCLUSIONS

I. — Nous avons donc, au cours de ce travail, démontré chez un grand nombre de levûres étudiées comparativement avec des moisissures, la présence d'un *noyau* (nucléole de Wager) dont l'existence est indubitable. Nous l'avons différencié de granules possédant une vive affinité pour les colorants (granules chromatiques de différents auteurs) et localisés généralement dans la vacuole (vacuole nucléaire de Wager). Nous avons montré que ces granules avaient comme propriété essentielle de se *colorer en rouge* avec un grand nombre de matières colorantes et nous les avons assimilés aux *corpuscules métachromatiques* de Babès et aux *grains rouges* de Bütcchli.

II. — Nous avons étudié de très près les caractères de ces corps si répandus dans les microorganismes ; nous avons fait voir qu'ils étaient capables, au moment de la sporulation, de subir des *phénomènes de dissolution, qu'ils étaient absorbés par les spores* et paraissaient se comporter comme des *matériaux de réserve* ou comme des produits jouant un rôle actif dans la nutrition. Nous les avons, en outre, différenciés des *globules d'huile*, produits de dégénérescence, qui n'apparaissent qu'à la fin du développement.

III. — Enfin, nous avons introduit définitivement une notion nouvelle chez les levûres, en décrivant des *phénomènes de sexualité* dans trois espèces de Schizosaccharomycètes. Ces phénomènes présentent un très haut intérêt : ils nous renseignent sur la valeur de l'asque que l'on doit considérer comme une forme supérieure de ces Champignons qui doivent être définitivement maintenus parmi les Ascomycètes. Ainsi semblent closes les longues discussions débattues entre Brefeld, de Bary et Hansen sur l'origine des levûres et reprises encore dans ces dernières années, par de nouvelles observations de Jörgensen.

Digitized by Google

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

ALBERT (R et W.). — Phénomènes chimiques dans la cellule de levûre morte. *Centr. f. Bakt.* Bd. VII, 1901.

BABÈS. — Ueber isolirt farbbare Antheile der Bakterien. *Zeitsch. f. Hygiene*, 1889. — Beobach. über die metachromatischen Körpechen. *Zeitsch. f. Hygiene*, 1895.

BARKER. — A conjugating « Yast » *Proceedings of the Royal Society* 9 juillet 1901. — On the spore formation among the Saccharomycètes. *Journal of the Federated Institutes of Brewing*, vol. VIII, 1902.

BEYERINCK. — Schir. Octosporas. *Centr. für. Bakt. vol.* XVI, 1894.

BIFFEN. — A Fat Destroying Fungus. *Ann. of Botany*, vol. XIII, 1899.

BOUIN. — Contribution à l'étude du noyau des levûres. *Archiv. d'anat. microscopique*, t. I, 1897.

BRÜCKE. — Die Elementarorganismen. *Sitzungsberichte der Kais. Akad. d. Vissenschaften zu Wien*, XLIV.

BUSCALIONI. — Saccharomyces guttulatus. — Rob. Malpighia, anno X.

BÜTSCHLI. — Ueber die sogenannten Centralkörper der zelle und ihre Bedeutung. *Verhandl. d. Naturhist. Mediz. Vereins zu Heidelberg. Neuefolge.* Bot. IV, Heft, 5. — Weitere Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig, 1896.

CASAGRANDI. — Ueber Morph. der Bastomycetes. *Centr. f. Bak.* 2e partie, t. IV, 1898.

CRATO. — Beiträge zur Anatomie des Elementarorganismus. *Cohn's Beiträge Biol. der Pflanzen.* Bd. VII, 1896.

CURTIS. — Contrib. à l'étude de la saccharomycose humaine. *Ann. Institut Pasteur*, 1896.

DANGEARD. — Sur la structure histologique des levûres et leur développement. *C. R. Ac. Sc.*, 3 juillet 1893.

EISENSCHITZ. — Ueber die granulierung der Hefenzellen. *Centr. f. Bakt.* 1 Abth.

ERNST. — Ueber den Xeros bacillen. *Zeitsch. f. Hygiene*, 1888. — Ueber Kern und Sporenbildung d. Bakterien. *Zeitsch. f. Hygiene*, 1889. — Structure des Bactéries. *Centr. f. Bakt.* 1902.

ERRERA et LAURENT. — Planches de Physiologie, pl. V, texte p. 17.

FISCHER et BREBECK. — Zur Morph. der Kahmpilze. Iena, 1891.

GUÉGEN. — Recherches sur les organ. mycéliens des solutions pharmaceutiques. *Bull. Soc. mycol. de France*, 1899.

GUILLIERMOND. — Recherches sur la sporulation des Schizosaccharomycètes. *C. R. Ac. Sc.*, 22 juillet 1901. — Rech. cytol. sur les levûres. *Thèse de doctorat ès-sciences de Paris*, 1902. — Sur la présence des corpuscules métachromatiques dans les Bactéries. *Lyon Médical*, 13 juillet 1902.

Digitized by Google

HANSEN. — Comptes rendus des travaux du labor. de Carlsberg. Copenhague, 1887 à 1901.

HARTOG. — The cytology of Saprolegnia. *Trans. Irish. Ac.*, XXX, 1895.

HENNEGUY. — Leçons sur la cellule. Paris, 1896.

HIERONYMUS. — Ueber die organisation der Hefenzellen. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, 1893.

HOFFMEISTER. — Zum Nachweise des Zellkernes bei Saccharomyces. *Sitzungsber. d. naturw*, 1900.

ISTWANFI. — Ueber die Rolle der Zellkerne bei Entwickelung der Pilze. *Ber. d. d. bot. Ges.*, 1895.

JANSSENS et LEBLANC. — Recherches cytologiques sur la cellule de levûre. *La Cellule*, t. XIV, 1er fascicule.

JÖRGENSEN. — Les microorganismes de la fermentation. Trad. franç., 1894, 2e édit. 1899.

KRASSER. — Ueber das angebliche Vorkommen eines Zellkernes in den Hefezellen. *Oestr. bot. Zeitsch.*, 1885. — Ueber den Zellkern der Hefe. *Oestr. bot. Zeitsch.*, 1893.

KUNSTLER et BUSQUET. — Recherches sur les grains rouges. *C. R. Ac. Sc.*, octobre 1897. — Sur la morphologie du Cryptococcus guttulatus. *C. R. Ac. Sc.*, 1890.

LAUTERBORN. — Unstersuchungen über Bau der Diatomen. Leipzig, 1896.

LÉGER (M.). — Recherches sur la structure des Mucorinées. *Thèse de la Faculté des sciences de Paris*, 1895.

LINDNER. — Schiz. Pombe. *Wochenschr. f. Brauerei*, 10e année, 1893, p. 1298.

MACALLUM. — On the distribution of assimilated iron compound other than hemoglobin and hematin in animal and vegetal cell., *Quaterly I. of. mic. sc.*, vol. XXXVIII.

MAFFUCI et SIRLEO. — Beobachtungen bei Einschluss desselben in die Zellen der pathologischen Gewebe. *Vorlaüfige Mittheilung Centr. f. Lath. und path. Anatomie.* Bd VI, n° 8.

MAIRE. — Note sur le développement et la structure des sporidies levures chez l'O. Maydis. *Bull. de la Soc. myc. de France*, 1898.

MARX et WOITHE. — Ein Verfahren zur Virulenshestimung der Bakterien. *Arbeiten aus der Kgl. chirurg. Klinik.* Berlin. Bd. XV. 1901. — *Centr. f. Bakt*, 1901.

MATRUCHOT et MOLLIARD. — Variation de structure sous l'influence du milieu du *Stichococcus bacillaris.*

MASSART. — Rech. sur les organ. inférieurs. Bruxelles, 1901.

MÖLLER. — Ueber den Zellkern und d. Sporen d. Hefen. *Centr. f. Rak*, 1892. — Neue Unters. über den Zellkern d. Hefe. *Ber. d. d. bot. Ges.*, 1892. — Weitere Mittheilungen über den Zellkern. d. Hefen. *Centr. f. Bakt.* 1893.

Digitized by Google

NOEGELI. — Zellenbildung und Zellenwachsthum bei Pflanzen. *Zeitsch. f. viss. Bot.*, 1, Bd.

A. NEISSER. — Versuche über die Sporenbildung bei Xerosbacillen. *Zeitsch. f. Hyg.* IV.

RAUM. — Zur Morph. p. Sprosspilze. *Zeitschr. f. Hygiene. Bol.*, X, 1891.

RONCALI. — Sur des parasites trouvés dans un adénocarcinome. *Ann. de micrographie.* VII, 1895.

SCHAUDINN. — Beitrage zur Kenntniss der Bakterien. *Archiv für Protistenkunde.* Bd 1, 1902, p. 306.

SCHLEIDEN. — Grundzüge der Botanik.

SCHIÖNNING. — Nouvelle et singulière formation d'ascus dans une levûre. *C. R. des trav. du lab. de Carlsberg.* 4e vol., 1re livr., 1895.

SCHMITZ. — Ueber die Zellkerne der Tallophyten. *Verhandl. d. Naturhist. vereins d. preuss Rheinlande v. Wesfalens*, 1880.

STRASBURGER. — Bol. Praticum, 2e Aufl.

TOKISHIGE. — Ueber pathogene Blastomycet. *Centr. f. Bak.*, t. XIX, 1896.

WAGER. — The nucleus of the Yeast. Plant. *Ann. of Botany*, vol. XII, 1898.

ZACHARIAS.— Beiträge zur Kenntniss des Zellkerns und der Sexualzellen. *Bot. Zeitung, 45, Iahrg.*

ZALEWKY. — Ueber Sporenbildung in Hefezellen. *Verhandl. der Krakauer Akad. der Viss. Math. naturw. sektion*, 1885, Bol. XIII.

ZIEMANN. — *Centr. f. Bakt.*, t. XXIV, 1888.

ZIMMERMANN. — Die Morph. der Pflanzenzellen-Tübingen.

EXPLICATION DES PLANCHES 1 à 9

PLANCHE 1

Dematium (species)

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain de 1 à 26 et à l'acide osmique après traitement à l'hémalun de 27 à 30) (1).

Fig. 1. — Filament jeune; noyaux avec leur structure; quelques corpuscules métachromatiques non colorés se laissent apercevoir dans les vacuoles.

Fig. 2, 3 et 4. — Formation des conidies levûres. La figure 3 montre des stades de division du noyau.

(1) Toutes les figures ont été dessinées à l'aide de l'objectif à immersion homogène 1/12 de Zeiss et l'oculaire compensateur numéro 6, et avec la chambre claire de Zeiss (grossissement : environ 1125).

Digitized by Google

Fig. 5. — Oïdie.

Fig. 6 et 7. — Filaments jeunes.

Fig. 8. — Id. divisions nucléaires.

Fig. 9. — Oïdie en voie de bourgeonnement.

Fig. 10 et 11. — Conidies levûres germant. La fig. 10 montre un stade de division du noyau où l'on aperçoit nettement la persistance de la membrane.

Fig. 12. — Oïdie.

Fig. 13, 14 et 15. — Conidies levûres.

Fig. 16. — Stade de division du noyau avec persistance de la membrane.

Fig. 17 à 26. — Conidies levûres.

Fig. 27 à 30. — Filament et conidies levûres en voie de dégénérescence. Le protoplasme s'est transformé en globules d'huile colorés en brun par l'acide osmique et se présentant sous forme de masses allongées à contours un peu irréguliers. On distingue quelques corpuscules métachromatiques plus petits, colorés en rouge sombre par l'hémalun.

PLANCHE 2

Oidium Lactis (de 1 à 19).

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain, sauf 8 et 10 colorés au bleu de méthylène).

Fig. 1. — Filament âgé; ils montrent leurs noyaux avec leur structure.

Fig. 2, 3, 6, 14, 15, 16, 17, 18 et 19. — Oïdies en voie de germination; noyaux et stades de division des noyaux. Les noyaux ne laissent pas apercevoir leur membrane.

Fig. 9, 11 et 12. — Oïdies (1).

Fig. 4, 5 et 7. — Filaments en voie de croissance. Stades de division des noyaux.

Fig. 8 et 10. — Corpuscules métachromatiques localisés dans les vacuoles et fortement colorés. Les noyaux ne sont pas visibles.

Fig. 13. — Formation des oïdies.

Saccharomyces cerevisiæ (de 20 à 40).

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain).

Fig. de 20 à 40. — Cellules au début de la fermentation : noyaux avec leur structure; 22, 37 et 40, stades de division du noyau.

PLANCHE 3

Saccharomyces cerevisiæ (suite) (de 1 à 41)

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain)

(1) Ces oïdies germent directement ou se sectionnent un certain nombre de fois par des cloisons médianes produisant des formes levûres analogues aux *Schizosaccharomyces*.

Digitized by Google

Fig. 1 à 15. — Cellules au début de la fermentation montrant leur noyau avec sa structure et sa division. — Dans la figure 7, le noyau est placé au-dessus de la vacuole et paraît être dans son intérieur.

Fig. 16 à 20. — Cellules après vingt-quatre heures de fermentation. Elles sont entièrement occupées par une vacuole glycogénique à teinte diffuse et contenant des granules faiblement colorés et de nature inconnue.

Fig. 21 à 30. — Division des noyaux et du plasme sporogène pendant la sporulation.

Fig. 31 à 34. — Formation des spores en forme de calottes.

Fig. 35. — Asque constitué.

Fig. 36. — Asque contenant des spores gonflées et prêtes à germer.

Fig. 37 à 40. — Germination des spores.

Saccharomyces ellipsoideus (de 41 à 48)

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain)

Fig. 41 à 48. — Cellules au début de leur développement. Noyaux avec leur structure.

PLANCHE 4

Saccharomyces ellipsoideus (de 1 à 8)

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain)

Fig. 1 à 3. — Cellules jeunes, noyaux avec leur structure.

Fig. 4 à 8. — Divisions du noyau et du plasme sporogène pendant la sporulation.

Saccharomyces Pastorianus (de 9 à 25)

(Figures colorées à l'hématoxyline de Heidenhain)

Fig. 9 à 14. — Cellules jeunes montrant leur noyau avec sa structure.

Fig. 15 à 17. — Divisions du noyau et du plasme sporogène pendant la sporulation.

Fig. 18 à 21. — Formation des spores.

Fig. 22 à 25. — Germination des spores.

Saccharomyces subcutaneus tumefaciens (de 26 à 28).

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain)

Fig. 26, 27 et 28. — Cellules jeunes montrant un petit noyau homogène.

Saccharomyces anomalus (de 29 à 38)

(Coloré à l'hémalun de 29 à 35 et à l'hématoxyline de Heidenhain de 36 à 38)

Fig. 29 à 31 et 34. — Cellules jeunes montrant leur noyau faiblement coloré et leurs vacuoles à corpuscules métachromatiques, ces derniers étant fortement colorés.

Fig. 32, 33 et 35. — Cellules montrant des vacuoles à corps méta-

Digitized by Google

chromatiques et des vacuoles glycogéniques, celles-ci ayant une teinte diffuse.

Fig. 36 et 37. — Division du noyau pendant la sporulation.

Fig. 38. — Formation des spores.

Saccharomyces membranæfaciens (de 39 à 43).

(Coloré à l'hémalun de 39 à 41 et à l'hématoxyline de Heidenhain de 42 à 43)

Fig. 39 à 41. — Cellules jeunes, noyaux faiblement colorés, et corpuscules métachromatiques vivement colorés.

Fig. 42. — Division du noyau pendant la sporulation.

Fig. 43. — Formation des spores.

Saccharomyces Ludwigii (de 44 à 50)

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain)

Fig. 44 à 47. — Cellules au début du développement montrant un noyau homogène et des stades de division du noyau.

Fig. 48 à 50. — Cellules au moment de la sporulation; elles ont été peu décolorées par l'alun de fer et laissent apparaître une structure alvéolaire. 50 montre deux masses de plasme sporogène très colorées et placées aux deux pôles, deux points paraissent plus fortement colorés que le reste, dans la masse de plasme sporogène située dans la partie supérieure et paraissent indiquer deux noyaux. On n'en distingue qu'un dans la masse inférieure.

PLANCHE 5

Saccharomyces Ludwigii

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain, sauf les figures de 36 à 41 qui sont colorées à l'hémalun)

Fig. de 1 à 7. — Stades de division du noyau et du plasme sporogène pendant la sporulation. Les cellules sont peu décolorées et les noyaux se confondent avec le plasme sporogène fortement coloré On les distingue cependant dans quelques cellules comme des taches plus sombres.

Fig. 8, 9, 10, 11. 12, 13. — Formation des spores et leur délimitation par une zone sombre en demi cercle (cellules peu décolorées).

Fig. 14 à 25, 27 à 30 et 33. — Divisions du noyau et du plasme sporogène pendant la sporulation. Les cellules très décolorées : le plasme sporogène est gris, le noyau noir foncé et le reste de la cellule est complètement décoloré. La fig. 28 montre des stades de division ressemblant un peu à une karyokinèse.

Fig. 26, 32, 34 et 35. — Formation des spores en forme de calotte.

Fig. 36, 37 et 39. — Cellules au début de la sporulation (la fixation ayant été faite par l'acide picrique, les corpuscules métachromatiques ne sont pas colorés). Le cytoplasma montre une belle structure alvéolaire.

Fig. 38, 40 et 41. — Division du noyau pendant la sporulation.

Digitized by Google

Fig. 42. — Asque constitué.
Fig. 43 à 48. — Germination des spores.

PLANCHE 6

Schizosaccharomyces octosporus

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain)

Fig. de 1 à 4. — Cellule au début du développement, noyau et division nucléaire.

Fig. 5 à 11. — Stades de fusion des deux gamètes. La cloison séparatrice persiste encore.

Fig. 12 à 16. — Stades de fusion des deux gamètes, dans lesquels la cloison séparatrice est résorbée. 12 à 15 représentent un stade de fusion du noyau ou la première division du noyau déjà fusionné (?).

Fig. 17. — Stade de fusion nucléaire.

Fig. 18 à 26. — Cellules provenant de la fusion de deux gamètes et ne renfermant plus qu'un seul noyau, la fusion étant effectuée. Dans 22 et 23 la fusion nucléaire s'est produite dans l'une des gamètes et non dans le canal de copulation.

Fig, 27 à 33. — Stades de division nucléaire pendant la sporulation.

Fig. 34 et 35. — Formation des spores.

Fig. 36 à 38. — Asques constitués.

PLANCHE 7

Schizosaccharomyces Pombe (de 1 à 27)

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain de 1 à 4 et de 9 à 24 et au bleu de méthylène de 5 à 8 et de 25 à 27).

Fig. 1 à 4. — Cellules au début du développement montrant leur noyau. Il est placé au centre de la cellule entre deux vacuoles à corpuscules métachromatiques.

Fig. 6 à 8. — Id. Le noyau n'est pas coloré. On aperçoit les corpuscules métachromatiques fortement colorés et localisés dans les vacuoles. 5 et 6 représentent la formation des vacuoles sous formes de petits alvéoles. Dans 7 et 8 ces alvéoles se sont fusionnés en deux vacuoles polaires.

Fig. 9 à 12. — Stades de fusion des deux gamètes. La cloison séparatrice persiste.

Fig. 13. — Id. La cloison a disparu. Les noyaux sont en voie de fusion ou subissent leur première division?

Fig. 14 à 19. — Id. Les noyaux ont opéré leur fusion.

Fig. 20 à 23. — Divisions nucléaires pendant la sporulation.

Fig. 24. — Asque constitué.

Fig, 25. — Cellule mère de l'asque avec ses corpuscules métachromatiques. Le noyau n'apparaît pas.

Digitized by Google

Fig. 26 et 27. — Asques constitués. Les spores n'ont pas fixé le bleu de méthylène et sont entourées de corpuscules métachromatiques en voie de dissolution.

Schizosaccharomyces Mellacei (de 28 à 34)

(Coloré par l'hématoxyline de Heidenhain).

Fig. 28 et 31. — Cellules végétatives.

Fig. 32 et 34. — Stades de fusion des deux gamètes et de division nucléaire.

Saccharomyces mycoderma cerevisiæ (de 35 à 47)

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain de 35 à 44 et à l'hémalun de 45 à 47)

Fig. 35 à 44. — Cellules jeunes montrant leur noyau et sa division.

Fig. 45 à 47. — Id. Le noyau apparaît avec une teinte pâle, les corpuscules métachromatiques sont fortement colorés.

Saccharomyces mycoderma vini (de 48 à 52)

(Coloré à l'hématoxyline de 48 à 50 et à l'hémalun de 51 à 52)

Fig. 48 à 50. — Cellules jeunes avec leur noyau.

Fig. 51 et 55. — Id. Noyaux avec une couleur pâle et corpuscules métachromatiques fortement colorés.

Saccharomyces apiculatus (de 53 à 61)

Fig. 53 à 55. — Cellules jeunes colorées à l'hémalun, noyaux pâles et corpuscules métachromatiques fortement colorés.

Fig. 56 à 61. — Id. colorées à l'hématoxyline de Heidenhain, noyaux.

PLANCHE 8

Endomyces albicans (Oidium albicans) (de 1 à 11)

(Coloré à l'hématoxyline de Heidenhain)

Fig. 1 à 8. — Cellules jeunes cultivées sur carotte, noyaux et divisions nucléaires.

Fig. 9 et 11. — Cellules cultivées sur liquide Raulin, noyaux. La vacuole glycogénique occupe la plus grande partie des cellules. Dans les fig. 9 et 10 la décoloration a été poussée très loin et cette vacuole est incolore. Dans la fig. 11 moins décolorée, la vacuole a une teinte diffuse et on aperçoit quelques granules dans son intérieur.

Torula nigra (de 12 à 26)

(Coloré à l'hémalun de 12 à 22 et et à l'hématoxyline de Heidenhain de 23 à 26)

Fig. 12 à 22. — Formes levûres, noyaux avec une couleur pâle, placés

Digitized by Google

au centre et corpuscules métachromatiques très colorés, localisés dans une ou deux vacuoles polaires.

Fig. 20. — Forme mycélienne, noyaux et corpuscules métachromatiques.

Fig. 23 et 26. — Formes levûres, noyaux.

Monilia candida (de 27 à 36)

(Coloré à l'hémalun)

Fig. 27 à 34. — Cellules jeunes, noyaux avec une teinte pâle et corpuscules métachromatiques fortement colorés et placés dans les vacuoles.

Fig. 35 et 36. — Id. Apparition d'une vacuole glycogénique se distinguant de la vacuole à corpuscules métachromatiques par sa couleur diffuse.

Ustilago Avenæ (de 37 à 47)

(Coloré à l'hématoxyline de Bœhmer de 37 à 40, au bleu de méthylène de 41 à 43 et à l'hématoxyline de Heidenhain de 44 à 47)

Fig. 37 à 40. — Cellules montrant leur noyau et une structure alvéolaire. Les corpuscules métachromatiques ont été décolorés.

Fig. 41 à 43. — Structure alvéolaire dans laquelle on aperçoit des vacuoles à corpuscules métachromatiques et des vacuoles glycogéniques; ces dernières ayant une teinte diffuse.

Le noyau n'est pas coloré.

Fig. 44 à 47. — Cellules montrant leur noyau avec sa structure.

Ustilago Maydis (de 48 à 57)

(Coloré à l'hémalun de 48 à 52 et à l'hématoxyline de Heidenhain de 53 à 57)

Fig. 48 à 52. — Noyaux avec une teinte pâle et corpuscules métachromatiques fortement colorés et localisés dans les vacuoles.

Fig. 53 à 57. — Noyaux.

PLANCHE 9

Dematium (species) (de 1 à 5 et de 20 à 22)

(Coloré à l'hémalun de 1 à 5 et au bleu de méthylène de 20 à 22)

Fig. 1. — Filament jeune. Noyaux avec leur structure, colorés en bleu. Corpuscules métachromatiques colorés en rouge sombre; ces derniers sont petits et offrent par leur disposition dans les vacuoles un aspect plus ou moins réticulé.

Fig. 2. — Conidie en voie de germination. La plupart des corpuscules métachromatiques sont à l'état de grosses sphérules résultant de la fusion de plus petits corpuscules.

Fig. 4. — Id. Les corpuscules atteignent des dimensions considerables

Fig. 3. — Conidie levûre en voie de bourgeonnement; divisions nucléaires.

Digitized by Google

Fig. 5. — Conidie levure.

Fig. 20 et 21. — Conidies levûres. La cellule inférieure des figures 20 et 21 contiennent des corpuscules métachromatiques montrant une périphérie bleu violacé foncé et un centre rouge pâle. La périphérie a un contour irrégulier indiquant des stades de fusion de ces corpuscules. La cellule supérieure de 20 est dépourvue de corpuscules et présente une couleur violacée provoquée probablement par la dissolution des corpuscules. Les noyaux ne sont pas colorés.

Fig. 22. — Conidie levûre. — Corpuscules métachromatiques colorés en bleu foncé.

Saccharomyces cerevisiæ (de 6 à 19 et de 46 à 50)
(Coloré à l'hémalun de 6 à 19 et au bleu polychrome de 46 à 50)

Fig. 6, 11, 14. — Cellules jeunes. Noyaux jeunes homogènes et corpuscules métachromatiques. Le noyau est entouré de corpuscules qui le relient à la vacuole.

Fig. 7 et 8. — Id. Bourgeonnement, 7 montre la division de la vacuole. Dans 8 cette dernière est achevée et on aperçoit la division du noyau.

Fig. 9, 10 et 12. — Id. Divisions nucléaires. Dans 10 le noyau montre quelques détails de sa structure.

Fig. 13 et 15. — Cellules montrant dans leur vacuole des corpuscules métachromatiques sous forme de grosses sphérules.

Fig. 16. — Cellule après 24 heures de fermentation. Formation de petites vacuoles glycogéniques à droite et à gauche de la cellule.

Fig. 17. — Id. Formation d'une vacuole glycogénique repoussant le reste de la cellule sur un côté de la cellule.

Fig. 18. — Id. La cellule est occupée presque entièrement par une vacuole glycogénique. Le noyau est sur un côté de la cellule avec quelques corpuscules mélachromatiques. La vacuole à corpuscules a disparu.

Fig. 19. — Cellule à la fin de la fermentation. La vacuole glycogénique a disparu.

Fig. 46. — Cellule destinée à sporuler, dissolution des corpuscules métachromatiques, le noyau s'aperçoit.

Fig. 47 à 50. — Absorption progressive des corpuscules métachromatiques par les spores.

Schizosaccharomyces octosporus (de 23 à 25)
(Coloré à l'hémalun)

Fig. 23. — Stade de conjugaison. Les gamètes montrent leurs protubérances qui se rejoignent. Les noyaux sont placés à la pointe des protubérances; chaque gamète contient une vacuole avec quelques corpuscules métachromatiques.

Fig. 24. — Id. Les deux gamètes sont soudées et la cloison séparatrice est dissoute.

Fig. 25. — Id. La fusion nucléaire est opérée.

Digitized by Google

Saccharomyces Ludwigii (de 26 à 45)

(Coloré à l'hémalun de 26 à 27 et au bleu polychrome de 28 à 45)

Fig. 26. — Cellule jeune. Noyau en voie de division. Corpuscules métachromatiques.

Fig. 27. — Id. Noyau montrant sa structure.

Fig. 28. — Cellule au milieu de la fermentation. Vacuole à corpuscules métachromatiques. Vacuoles à glycogène aux deux pôles.

Fig. 29 et 30. — Cellules destinées à sporuler; vacuolisation du cytoplasme. Dans 30 les corpuscules sont devenus très nombreux.

Fig. 31 à 33. — Cellules en voie de sporuler; dissolution des corpuscules métachromatiques dans les vacuoles qui les renferment.

Fig. 34 et 35. — Id. On aperçoit le noyau.

Fig. 36. — Id. Condensation du plasme sporogène autour du noyau.

Fig. 37, 38, 39, 40. – Divisions du noyau et du plasme sporogène. Les corpuscules ont diminué de nombre ou disparu, mais le liquide rouge subsiste.

Fig. 41. — Formation des spores en forme de calottes.

Fig. 42 à 45. — Les spores sont formés. Dans 42, on aperçoit encore des corpuscules métachromatiques dans l'épiplasme. Les spores n'en renferment pas. Dans 43 à 45, les spores renferment quelques corpuscules dans le cytoplasme. Les corpuscules n'existent plus dans l'épiplasme; 44 et 45 montrent la disparition graduelle du liquide rouge.

Saccharomyces Pastorianus (de 50 à 51)

(Coloré au bleu polychrome)

Fig. 50 à 51. — Stades de sporulation; dissolution des corpuscules métachromatiques et leur absorption par les spores.

Saccharomyces ellipsoideus (de 52 à 53)

(Coloré au bleu polychrome)

Fig. 52 à 53. — Stades de sporulation; dissolution des corpuscules métachromatiques et leur absorption par les spores.

Saccharomyces anomalus (de 54 à 55)

(Coloré au bleu polychrome)

Fig. 54 à 55. — Stades de sporulation; dissolution des corpuscules métachromatiques et leur absorption par les spores.

Saccharomyces membranæfacieus (de 56 à 58)

(Coloré au bleu polychrome)

Fig. 56 à 58. — Stades de sporulation; dissolution des corpuscules métachromatiques et leur absorption par les spores.

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX

DE

PALÉONTOLOGIE VÉGÉTALE

PUBLIÉS DANS LE COURS DES ANNÉES 1897-1900

par M. R. ZEILLER (Suite).

C. — *Etudes relatives au mode de formation des couches de houille.*

M. Grand'Eury s'est attaché (1) à recueillir dans le bassin de St-Etienne toutes les observations susceptibles de jeter quelque jour sur la question de la formation des couches de houille. Sur un grand nombre de points du bassin, il a trouvé des plantes encore en place, des troncs debout, visiblement enracinés, formant parfois de véritables forêts fossiles. Tous les types habituels de la flore houillère se sont montrés à lui dans ces conditions : les Calamariées, avec leurs tiges verticales attachées à la base sur des rhizômes traçants ; les Fougères, représentées soit par des *Psaronius*, soit par des tiges rampantes ou des bulbes émettant de gros pétioles qui correspondent à des frondes de Névroptéridées ; les Lépidodendrées et les Sigillariées, celles-ci offrant à leur partie inférieure les caractères des *Syringodendron* et ne présentant de cicatrices foliaires véritables qu'à une certaine hauteur, sur la partie aérienne de leurs tiges ; les *Stigmaria*, qui se montrent fixés au sol sur toute leur longueur par leurs appendices, lesquels se bifurquent souvent à plusieurs reprises et se divisent ainsi en branches de plus en plus fines, à la manière des racines de Lycopodinées ; enfin les Cordaïtes, dont les tiges sont parfois munies de racines à diverses hauteurs, et paraissent avoir vécu le pied dans l'eau à la manière des Cyprès chauves. Toutes ces tiges en place se présentent d'ailleurs dans des conditions telles, qu'il n'est pas douteux qu'elles aient vécu sur un sol submergé, mais couvert d'une tranche d'eau relativement peu profonde. Au pied et autour de ces tiges on trouve généralement des débris

(1) C. Grand'Eury : Sur les Calamariées debout et enracinées du terrain houiller; Sur les Fougères fossiles, etc. (*C. R. Acad. Sc.*, CXXX, p. 871-874; p. 988-991 : p. 1054-1057; p. 1105-1108; p. 1167-1169; p. 1366-1369; p. 1512-1515; p. 1687-1690; CXXXI, p. 166-169; 1900); Du bassin de la Loire : sur les tiges debout et souches enracinées, les forêts et sous-sols de végétation fossiles, et sur le mode et le mécanisme de formation des couches de houille de ce bassin (*Congrès géol. intern.*, *France* 1900, p. 159-160; p. 521-538).

Digitized by Google

des organes aériens qui leur correspondent, tombés et enfouis sur place. Sur certains points, on voit de semblables forêts se succéder à différents niveaux, attestant une série d'affaissements du sol. Outre ces forêts fossiles, M. Grand'Eury a observé des couches pénétrées de racines en place, constituant une sorte de terreau fossile et représentant d'anciens sols de végétation ; quelques-uns d'entre eux sont recouverts d'un peu de houille formée par l'accumulation de branches et de feuilles tombées sur place. Mais le plus souvent, et c'est le cas pour toutes les couches importantes, la houille est formée d'éléments empilés à plat, flottés et transportés des bords marécageux du bassin dans ses parties les plus profondes, sans cependant que la profondeur d'eau ait jamais dû être bien grande, les affaissements du fond ayant été progressifs, ou ayant été suivis, lorsqu'ils ont été brusques, de la formation de dépôts stériles.

IV. — Végétaux secondaires antécrétacés.

M. Potonié a rappelé l'attention (1) sur un remarquable type de tiges du Trias inférieur, auquel le Comte de Solms a consacré peu après une étude détaillée (2) : il s'agit du genre *Pleuromeia*, du Grès bigarré de Bernburg, dont le premier échantillon fut découvert il y a quelque 60 ans dans un bloc de pierre qui, étant tombé, au cours d'une réparation, du haut du clocher de la cathédrale de Magdebourg, avait mis au jour en se brisant l'empreinte qu'il renfermait. Ce genre, qui était à peu près tombé dans l'oubli après avoir fait cependant de 1842 à 1859 l'objet de plusieurs travaux, comprend des tiges d'assez faible diamètre, munies à leur base de quatre protubérances disposées en croix et marquées de cicatrices rondes analogues à celles des *Stigmaria*, auxquelles s'attachent des organes appendiculaires allongés, qui sont certainement des racines. La surface externe de la tige, très rarement conservée, est munie de cicatrices foliaires assez grandes, à contour rhomboïdal, marquées à leur intérieur d'une cicatricule médiane comprise entre deux fortes cicatrices triangulaires accolées par leur base. Ces cicatrices foliaires ne laissent pas de rappeler celles des Sigillaires à écorce lisse, bien qu'elles ne soient pas rangées en files verticales distinctes. Associés à ces tiges dans des conditions qui ne permettent guère de douter de leur dépendance mutuelle, se rencontrent de longs cônes, rappelant par leur aspect ceux des Sapins, à fortes écailles orbiculaires portant, à ce qu'il semble sur leur face dorsale, un corps arrondi presque aussi grand qu'elles-mêmes, à surface striée en long, qui doit être soit un sporange, soit une graine. Toute réserve faite sur l'interprétation de ces appareils reproducteurs, le genre *Pleuromeia* semble avoir des affinités avec le

(1) H. Potonié : Lehrbuch der Pflanzenpalaeontologie, p. 216-218; 1898.

(2) H. Graf zu Solms-Laubach : Ueber das Genus *Pleuromeia* (*Botan. Zeitung* 1899, p. 227-243, pl. VII).

Digitized by Google

genre *Sigillaria*, en même temps qu'il fait songer, par la disposition de la base de ses tiges, aux *Isoetes*, si bien que MM. Scott et Hill se demandent (1) s'il ne représenterait pas un type intermédiaire entre ceux-ci et les Lycopodinées paléozoïques.

La flore du Trias supérieur a fait l'objet, de la part de M. Benecke (2), de la publication de listes comparatives, dont l'examen, joint à l'étude stratigraphique et paléozoologique, l'amène à ranger sur un même horizon les couches à plantes de Lunz en Autriche et les « grès à roseaux » du Wurtemberg. En Angleterre, M. Morton a fait connaître (3) une nouvelle forme spécifique d'*Equisetites* du Keuper. Aux États-Unis, M. Lester Ward a passé en revue, avec la collaboration de MM. Fontaine, Wanner et Knowlton (4), les données actuellement acquises sur la flore triasique du Connecticut, de la région de l'Hudson et du Potomac, de la Virginie et de la Caroline du Nord : les auteurs font connaître notamment, du Trias supérieur de Pensylvanie, plusieurs espèces nouvelles, parmi lesquelles je mentionnerai, comme particulièrement intéressantes, une Fougère à frondes encore attachées le long d'un rhizôme traçant, rappelant par le port et la taille notre Polypode commun, mais à nervation anastomosée, que M. Fontaine range provisoirement, sous le nom de *Clad. reticulata*, dans le genre *Cladophlebis*, où elle ne pourra certainement pas être maintenue; deux *Zamites*, un *Brachyphyllum*, un rameau feuillé à petites feuilles distiques et un fragment de cône, classés comme *Araucarites*, et enfin un type générique nouveau, représenté par de longues feuilles filiformes et uninerviées rappelant les feuilles de *Pilularia*, mais groupées sur une souche commune, et que M. Wanner a rapporté, peut-être un peu arbitrairement, aux Monocotylédones, sous le nom de *Yorkia*. M. Fontaine a donné en même temps d'intéressants renseignements sur les types de la collection Emmons, du Trias supérieur de la Caroline du Nord, parmi lesquels il a signalé, entr'autres, un *Podozamites* et un *Cephalotaxopsis* nouveaux ; il a figuré à nouveau les curieux *Lepacyclotes* d'Emmons, qu'il voudrait faire rentrer dans le genre *Equisetum*, mais qui semblent représenter des écailles fertiles d'un type bien autonome. Enfin, M. Lester Ward a donné une intéressante description des forêts fossiles triasiques de l'Arizona, dont on a pu admirer à l'Exposition de 1900

(1) D.-H. Scott and T.-G. Hill : The structure of *Isoetes Hystrix* (*Ann. of Bot.*, XIV, p. 413-454, pl. XXIII, XXIV; 1899).

(2) E.-W. Benecke : Lettenkohlengruppe und Lunzer Schichten (*Ber. naturforsch. Ges. zu Freiburg i. Br.*, X, p. 109-151; 1897).

(3) G. H. Morton : The geology of the country around Liverpool, including the North of Flintshire. In-8°, 319 p , 22 pl.. 1897.

(4) Lester F. Ward : Status of the mesozoic Floras of the United states. First paper : The older mesozoic, by L. F. W., with the collaboration of W. M. Fontaine, Atreus Wanner and F. H. Knowlton (*20th Ann. Rep. U. S. Geol. Surv.*, pt. II, p 211-748; p. 931-953; pl. XXI-CLXXIX; 1900).

Digitized by Google

les magnifiques bois silicifiés, appartenant au type *Araucarioxylon*, et qu'il voudrait voir (1) préservées par un acte législatif de la destruction dont elles sont menacées. M. Knowlton a fait connaître, d'autre part, une forme spécifique nouvelle d'*Araucarioxylon* du Trias de la Virginie et de la Caroline du Nord (2), *Ar. Woodworthi*, qu'il regarde extrêmement voisine de l'*Ar. arizonicum*, si même elle ne lui est pas identique.

La flore un peu plus élevée du Rhétien est, comme on sait, caractérisée par l'apparition de certains types particuliers de Fougères, tels que les *Laccopteris*, qui ont fait, de la part de M. Seward (3), l'objet de quelques observations nouvelles : confirmant ce que j'avais dit de leur affinité avec le *Matonia pectinata*, il a signalé l'existence fréquente, sur les pinnules du *Lacc. elegans* des gisements classiques de Bayreuth, d'anastomoses semblables à celles qu'il a constatées chez le *Mat. pectinata*, dont il a fait une étude détaillée; il regarde le genre vivant comme constituant le dernier représentant d'une famille particulière, celle des Matoninées, à laquelle ont appartenu les genres *Matonidium*, *Microdictyon*, *Phlebopteris*, *Gutbiera* et *Laccopteris*, ces quatre derniers ne paraissant, d'ailleurs, constituer qu'un seul et même type générique.

M. Fliche a signalé (4) la présence, dans le Rhétien du Jura, du *Clathropteris platyphylla*, l'une des espèces typiques de ce niveau ; et diverses espèces tout aussi caractéristiques ont été découvertes par M. Hjorth dans l'argile réfractaire de Vellengsby, dans l'île de Bornholm (5), où l'existence de l'étage rhétien n'avait pas encore été constatée.

La flore rhétienne de la Ternera, au Chili, sur laquelle j'avais donné quelques indications en 1875, a fait l'objet d'une étude détaillée de la part de MM. de Solms-Laubach et Steinmann (6), qui, à côté de formes déjà connues soit du Rhétien de Suède, soit du Rhétien de la République Argentine, y ont observé plusieurs espèces nouvelles, appartenant aux genres *Acrocarpus*, *Lesleya*, *Chiropteris* et *Baiera*, la comparaison de

(1) Lester F. Ward : Report on the petrified forests of Arizona. Washington. In-8°, 23 p.. 1900.

(2) F.-H. Knowlton : Report on some fossil wood from the Richmond Basin, Virginia (19th *Ann. Rep. U. S. Geol. Surv.*; pt. II, p. 516-519, pl. LIII; 1899).

(3) A.-C. Seward : On the structure and affinities of *Matonia pectinata*, R. Br., with Notes on the geological history of the Matoninæ (*Phil. Trans. Roy. Soc.*, ser. B, vol. 191, p. 171-209; pl. 17-20; 1899).

(4) P. Fliche : Note sur la présence du *Clathropteris platyphylla* dans le Rhétien du Jura (*Bull. Soc. Géol. Fr.*, XXVIII, p. 832-833; 1900).

(5) A. Hjorth : Vellengsbyleret og dets Flora (*Danmarks geol. Undersogelse*, II R , Nr 10, p. 61-87, pl. III-IV; 1899).

(6) H. Graf zu Solms-Laubach und G. Steinmann : Das Auftreten und die Flora der rhätischen Kohlenschichten von La Ternera (Chile) (*Neues Jahrb. f. Min.*, XII. Beil.- Bd., p. 581-609, pl. XIII, XIV; 1899).

Digitized by Google

l'échantillon figuré comme *Baiera* (?) *Steinmanni* avec ceux du même gisement que j'avais rapportés jadis au *Baiera Münsteri* ne me laissant d'ailleurs aucun doute sur la légitimité de l'attribution générique, non plus que sur la convenance de la création d'un nom spécifique nouveau ; M. de Solms crée en outre un nouveau genre, sous le nom de *Copiapœa*, pour des fragments de frondes ou de pennes rubanées, à limbe plissé, différant des *Tæniopteris* par l'irrégularité de leur nervation, leurs nervures se montrant tantôt simples, tantôt plusieurs fois ramifiées et semblant parfois s'anastomoser ; enfin l'examen d'échantillons fertiles de *Pecopteris Fuchsi* lui a permis de rapporter cette espèce aux *Asterotheca*.

J'ai signalé la présence, dans la flore rhétienne du Tonkin (1), d'un nouveau type générique d'Equisétinée, rappelant nos *Annularia* paléozoïques ; les renseignements plus complets que j'ai recueillis sur cette flore des couches de charbon de Hon-Gay et de Ké-Bao y ont confirmé, d'ailleurs, la présence de nombreuses espèces, partie identiques, partie étroitement alliées, les unes à nos espèces rhétiennes d'Europe, les autres à des espèces, soit permo-triasiques, soit liasiques, de l'Inde ou de la Perse. Ces mêmes gisements m'ont fourni des frondes presque complètes, tant fertiles que stériles, de *Clathropteris platyphylla* (2), et j'ai pu conclure à une réelle affinité entre cette espèce et les *Dipteris* actuels, affinité que reconnaissent également M. Potonié (3) et M. Seward (4). Ce dernier regarde les *Dipteris* comme devant constituer une famille distincte des Polypodiacées, les Diptéridinées, dans laquelle il range les genres fossiles *Protorhipis*, *Camptopteris* et *Dictyophyllum*, en réunissant à ce dernier le genre *Clathropteris*.

Les échantillons rapportés de la Chine méridionale par M. Leclère (5) m'ont permis de constater l'existence, en divers points du Se-Tchouen et du Yun-Nan, d'une flore rhétienne semblable à celle du Tonkin et renfermant comme elle des formes européennes et des formes indiennes, notamment des *Glossopteris*.

M. Krasser (6) a également reconnu la présence d'espèces rhétiennes

(1) R. Zeiller : Note sur la flore fossile du Tonkin (*Congrès géol. intern., France* 1900, p. 165; p. 498-501).

(2) R. Zeiller : Eléments de Paléobotanique; 1900.

(3) H. Potonié : Palaeophytologische Notiten. XI. Mitder recenten Polypodiaceengattung *Dipteris* verwandte oder generisch idente mesozoische Reste (*Naturwiss. Wochenschrift*, XV, p. 315-316; 1900).

(4) A.-C. Seward : On the structure and affinities of *Dipteris conjugata*, Reinw., with Notes on the geological history of the Dipteridinæ (*Rep. Brit. Ass. Adv. Sci.*, Bradford 1900, p. 946). — A.-C. Seward and E. Dale : On the structure, etc. (*Phil. Trans. Roy. Soc.*, ser. B, vol. 194, p. 487-513, pl. 47-49; 1901).

(5) R. Zeiller : Sur quelques plantes fossiles de la Chine méridionale (*C. R. Acad. Sc.*, CXXX, p. 186-188; 1900).

(6) F. Krasser : Die von W.-A. Obrutschew in China und Centralasien 1893-1894 gesammelten fossilen Pflanzen (*Denkschr. k. Akad. Wiss. Wien*, LXX, p. 139-154, pl. I-IV; 1900).

Digitized by Google

sur un autre point du Se-Tchouen, et peut-être est-ce également au Rhétien qu'il faut rapporter les frondes de *Danæopsis* et les feuilles de *Nœggerathiopsis* signalées par lui dans le Chen-Si ; mais c'est sans doute à un niveau plus élevé, à l'Oolithe inférieure, qu'appartiennent les gisements du Turkestan chinois, où M. Obrutschew a recueilli d'assez nombreuses feuilles de *Ginkgo*, de *Trichopitys*, de *Czekanowskia* et de *Phœnicopsis*, avec deux espèces nouvelles de ce dernier genre.

En Australie, M. Shirley a étudié la flore, vraisemblablement rhétienne ou liasique, d'Ipswich et de Brisbane dans le Queensland (1), dans laquelle il a observé de nombreuses formes spécifiques nouvelles : je mentionnerai, parmi les Fougères, plusieurs *Sphenopteris* et *Pecopteris*, un *Dictyophyllum*, et un *Nevropteris* appartenant en réalité au genre *Danæopsis* ; certaines attributions génériques de l'auteur semblent, d'ailleurs, contestables, particulièrement en ce qui concerne les échantillons, fort imparfaits, décrits comme *Lygodium* et comme *Equisetites*. Je citerai en outre plusieurs *Pterophyllum* nouveaux, ainsi que de très belles feuilles de *Ginkgo*, et des fructifications, décrites comme *Beania geminata*, qui semblent devoir appartenir à ce dernier genre. M. Seward, qui a fait, avec Miss Gowan, une étude détaillée du *Ginkgo biloba* (2) et a passé en revue, en discutant leurs affinités, les divers genres fossiles attribuées aux Ginkgoacées, est, du reste, porté à penser que le type même du genre *Beania*, le *Beania gracilis*, qu'on rapporte généralement aux Cycadinées, pourrait bien représenter plutôt une inflorescence femelle de Ginkgoacée.

Dans ce même travail, où il décrit également plusieurs *Araucarioxylon* nouveaux provenant pour la plupart des couches permo-houillères du Queensland, M. Shirley figure quelques feuilles de Dicotylédones, un *Sapindus*, un *Ficus* et un *Myrica* nouveaux, ainsi qu'un *Cinnamomum*, provenant des couches d'Oxley, regardées comme crétacées par C. von Ettingshausen et comme tertiaires par M. Stokes, mais qu'il regarde, avec les géologues locaux, MM. Jack et Deane, comme contemporaines des couches d'Ipswich. La présence de Dicotylédones à une époque aussi ancienne, remontant au moins au début du Jurassique, serait un fait absolument nouveau et constituerait une découverte de la plus haute importance ; mais comme on n'a retrouvé à Oxley aucune des espèces habituelles d'Ipswich et de Brisbane et que ces derniers gisements n'ont jamais fourni aucun échantillon de Dicotylédone, il y a tout lieu de croire que cette assimilation est inexacte et que, là comme ailleurs, les études géologiques ultérieures confirmeront les déterminations tirées des données paléontologiques.

C'est encore au Rhétien ou à la base du Jurassique qu'il faut appa-

(1) J. Shirley : Additions to the fossil Flora of Queensland (*Queensl. Geol. Surv., Bull.* n° 7, v-25 p., 27 pl. ; 1898).

(2) A.-C. Seward and Miss J. Gowan : The Maidenhair Tree (*Ginkgo biloba*, L.) (*Ann. of Bot.*, XIV, p. 109-154, pl. VIII-X ; 1900).

Digitized by Google

remment rapporter les grès de Tanga, à l'extrémité nord-est de l'Afrique Orientale Allemande, dans lesquels M. Potonié a reconnu (1) des rameaux de Conifères accompagnés d'écailles de cônes à bord plurilobé, qu'il classe dans le genre *Voltziopsis*, réunissant sous ce nom les formes, postérieures au Trias moyen, affines aux *Voltzia* par leurs écailles séminifères lobées, mais à feuilles courtes ou parfois même squamiformes.

Les recherches entreprises par M. Villiaume dans la région nord-ouest de Madagascar ont fait découvrir, dans les couches charbonneuses de la baie de Passandava ainsi que de Nossi-Bé, avec de nombreux fossiles animaux du Lias supérieur, une flore assez riche, dans laquelle M. Bureau a signalé d'abord (2) un *Equisetum* nouveau, et où j'ai reconnu ensuite (3) diverses Fougères, *Scleropteris*, *Pecopteris*, et de nombreuses Conifères, *Pagiophyllum*, *Brachyphyllum*, *Sphenolepidium* et *Thuyites*, affines ou même identiques à des formes jurassiques européennes ou indiennes. La constitution des cônes attachés aux rameaux de *Brachyphyllum* a confirmé l'attribution de ce genre aux Taxodinées. J'ai en outre observé dans cette flore des graines du type des *Cordaicarpus* associées à des feuilles de *Yuccites*, ce qui vient à l'appui de l'attribution des *Yuccites* aux Cordaïtées.

(1) H. Potonié : Lehrbuch der Pflanzenpalaeontologie, p. 303-304 ; 1899 ; Fossile Pflanzen aus Deutsch-und Portugiesisch-Ostafrika (*Deutsch-Afrika*, vol. VII ; 1900).

(2) E. Bureau : Sur la première plante fossile envoyée de Madagascar (*C. R. Acad. sc.*, CXXX, p 344-346; 1900).

(3) R. Zeiller : Sur les végétaux fossiles recueillis par M. Villiaume dans les gîtes charbonneux du nord-ouest de Madagascar (*C. R. Acad. sc.*, CXXX, p. 1570-1573; 1900).

(A suivre).

450 Lille, imp. Le Bigot frères Le Gérant : Th. Clerquin

Digitized by Google

RECHERCHES

SUR LA FERMENTATION PROPRE

par MM. L. MATRUCHOT et M. MOLLIARD

(Planches 10 à 13)

Après avoir montré que la fermentation alcoolique est due à l'activité d'un être vivant, une levure, pouvant décomposer différents sucres en plusieurs produits dont les principaux sont l'alcool et le gaz carbonique, Pasteur a étendu cette notion aux végétaux supérieurs, et les recherches qui ont suivi n'ont fait que montrer par des exemples de plus en plus nombreux la généralité du phénomène ; on s'accorde actuellement à regarder toute cellule vivante, contenant du sucre, comme pouvant se comporter à la façon d'une cellule de levure, lorsqu'on la prive d'oxygène.

Pasteur montra que des grains de raisin, des melons, des oranges, des prunes, des feuilles de rhubarbe, plongés dans le gaz carbonique, produisaient de l'alcool et du gaz carbonique. Plus tard, Lechartier et Bellamy reprirent l'étude du phénomène et s'attachèrent à montrer que dans les expériences où des fruits, soustraits à l'action de l'oxygène, présentaient le phénomène de la fermentation alcoolique, on se trouvait bien en présence d'une *fermentation propre* à ces végétaux, et non d'une fermentation qui se serait produite sous l'action de levures introduites avec les fruits. C'est par un examen microscopique que les expérimentateurs constataient la présence ou l'absence de ces organismes.

Les fruits qui étaient soumis aux expériences faites par ces deux auteurs étaient introduits dans de larges éprouvettes de 1 litre de capacité environ ; le bouchon qui fermait chacune d'elles et qui était recouvert de mastic était traversé par un tube à dégagement débouchant sur le mercure ; il n'était pas question, pour ces expériences, de précautions particulières d'asepsie.

Digitized by Google

Lorsqu'au bout de plusieurs mois l'expérience avait pris fin, c'est-à-dire que le dégagement de gaz carbonique avait cessé, les fruits présentaient un aspect qu'il est utile de rappeler, puisque le côté morphologique de la question fait en partie l'objet de notre étude. C'est ainsi qu'à propos des pommes et des poires les auteurs (1) disent que le tissu cellulaire est plus ou moins désagrégé, qu'on ne trouve plus que de rares cellules, qu'au bout d'un an des poires présentaient l'apparence d'une masse de sirop à l'intérieur d'un sac, que des pommes reinettes avaient la consistance de pommes cuites.

Nous avons opéré tout d'abord d'une manière analogue et nous n'avons pas tardé à reconnaître que, dans ces conditions d'expérimentation, les fruits ou autres organes végétaux, soustraits à la présence d'oxygène, présentent à leur intérieur de nombreux microorganismes, généralement de nature bactérienne, et qu'il faut rapporter à leur action cette désorganisation des tissus. On comprend facilement que dans ces conditions il nous était impossible d'observer avec sécurité les modifications subies par le protoplasma et le noyau au cours de la fermentation propre de la cellule ; alors même en effet que les bactéries qui se développent dans les organes mis en expérience n'interviendraient en rien dans le phénomène physiologique observé, les études correspondantes de morphologie ne présenteraient aucune rigueur ; il est en effet impossible de faire le départ, parmi les modifications observées dans la cellule, de celles qui sont dues à la vie anaérobie de cette cellule et de celles qui proviennent de l'action des organismes étrangers.

Il était donc indispensable avant tout d'avoir à notre disposition un procédé opératoire qui permît de suivre le phénomène de la fermentation propre jusqu'au bout en restant à l'abri de l'intervention de tout être microscopique.

Outre le point de vue morphologique, la question présente d'ailleurs un certain intérêt d'ordre physiologique : on peut se demander si les microorganismes qu'on trouve ainsi constamment dans les organes végétaux soumis aux expériences de la fermentation alcoolique, n'interviennent pas, au moins pour une part, dans le

(1) Lechartier et Bellamy : *De la fermentation des pommes et des poires* (C. R. Ac. Sc., 1872, t. 75, p. 106).

Digitized by Google

phénomène observé ; l'expérience nous a montré en effet qu'en dehors des levures il se trouve assez souvent, dans certains végétaux, des bactéries capables de provoquer une fermentation alcoolique ; il n'était donc pas sans intérêt de donner une démonstration rigoureuse de l'existence de la fermentation propre, c'est-à-dire de la fermentation du sucre dans un végétal supérieur en l'absence de tout organisme étranger. Nous verrons que cette démonstration peut être effectivement donnée, mais que, dans des conditions rigoureuses d'asepsie, les organes soumis à l'expérience ne présentent plus du tout l'aspect décrit par Lechartier et Bellamy.

Nous décrirons dans le premier chapitre les expériences qui nous ont permis de faire en toute sécurité l'étude morphologique des cellules de végétaux supérieurs subissant la fermentation propre, le second chapitre de ce travail devant être réservé à la partie cytologique proprement dite.

CHAPITRE PREMIER

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Lorsqu'on opère avec des végétaux entiers ou même avec des organes entiers, tels que des tubercules ou des fruits, il est nécessaire, pour les stériliser à l'extérieur, d'employer soit la chaleur, soit des substances antiseptiques ; mais les deux procédés offrent de sérieux inconvénients, surtout lorsqu'on veut faire une étude histologique.

Un flambage externe est le plus souvent insuffisant pour obtenir une stérilisation complète, surtout lorsque l'organe présente des anfractuosités un peu profondes ; pour qu'il soit réellement efficace dans ces conditions il faut le prolonger assez longtemps ; les cellules externes sont alors tuées, mais il est malaisé de savoir jusqu'à quelle profondeur la chaleur exerce son action sur les tissus de l'organe.

Les antiseptiques sont beaucoup plus sûrs, mais leur pénétration dans les tissus, à des distances variables de la surface, offre, pour l'étude que nous avions à faire, le même inconvénient que l'application de la chaleur.

Pour ces raisons, nous avons renoncé à l'emploi des procédés

Digitized by Google

de stérilisation, et partant d'un principe tout différent, nous nous sommes attachés à prélever, d'*une manière aseptique*, dans l'intérieur des organes sur lesquels nous avons opéré, des portions de ces organes dont il devenait alors inutile de stériliser la surface. Nous avons eu recours, pour obtenir ce résultat, aux deux méthodes que nous allons exposer et que nous avons surtout appliquées pour les fruits au Potiron, pour les tubercules à la Betterave.

Première méthode. — Dans l'organe à étudier, le Potiron par exemple, on taille à l'aide d'un couteau chauffé au rouge un massif prismatique de la pulpe ; de cette façon les organismes qui peuvent être entraînés par la lame à partir de la surface du fruit ne contaminent que faiblement la surface du massif prélevé, et en répétant sur ce premier massif la même opération on a beaucoup de chances pour obtenir un bloc aseptique ; mais on fait ainsi intervenir l'action de la chaleur, et nous avons dit quel inconvénient en résulte pour l'étude histologique ; il s'agit alors de découper dans le bloc un second massif, sans faire intervenir la chaleur. Pour y arriver, après avoir stérilisé soigneusement trois des faces, en y appliquant à plat la lame du couteau fortement chauffée, on fait avec cette même lame, refroidie à l'abri des poussières après stérilisation, des sections parallèles aux faces supérieure et inférieure, mais sans prolonger ces sections jusqu'à la face opposée ; on peut ainsi assez aisément écarter en la soulevant la bande de tissu comprise entre la face supérieure et la section voisine.

Il suffit ensuite, en se protégeant contre les poussières de l'atmosphère par cette bande à demi soulevée, d'opérer des sections dans divers sens, toujours avec une lame stérilisée à la flamme puis refroidie, de manière à déterminer un nouveau massif prismatique, cette fois entièrement aseptique, qu'on introduit avec une pince stérile dans le récipient où il doit subir la fermentation propre.

Ce récipient consiste par exemple en un simple flacon, stérilisé au préalable au four à flamber ; après y avoir introduit aussi rapidement que possible un ou plusieurs morceaux de l'organe considéré, on remplace le tampon d'ouate par un bouchon de caoutchouc traversé par un tube de verre et stérilisé au préalable par un séjour

Digitized by Google

prolongé dans une solution de sublimé. Le tube de verre débouche sur le mercure ou bien, recourbé en U et contenant du mercure, il constitue un manomètre.

Dans d'autres cas nous nous sommes servis d'un simple tube de culture T (figure 31), assez large, qu'on renverse (après l'avoir flambé) sur du mercure contenu dans un verre, tout en y faisant pénétrer le morceau d'organe à étudier, ce dernier étant lui-même fixé sur une tige de verre effilée *v*; cette dernière repose sur le mercure et a été préalablement stérilisée. En portant le tout sous une cloche où on fait un vide partiel et rétablissant ensuite la pression normale, une partie du mercure monte dans le tube qui se trouve ainsi assujetti, en même temps que les changements ultérieurs de pression sont indiqués par la dénivellation du mercure dans le tube T.

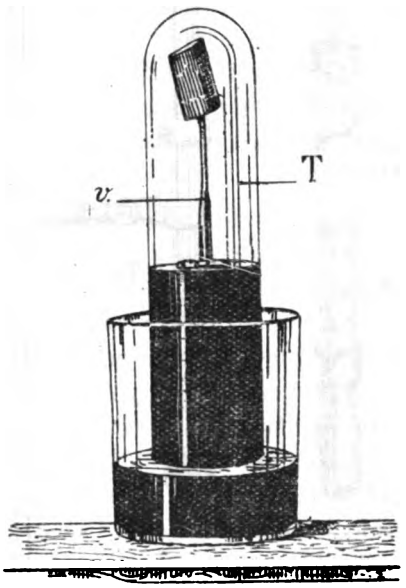


Fig. 31. — Appareil pour l'étude de la fermentation propre (organes peu volumineux).

Ce second dispositif est particulièrement commode lorsqu'on a affaire à de petits organes qu'on ne veut pas placer dans une atmosphère trop considérable par rapport à leur propre volume.

Lorsqu'au bout de temps variables on veut prendre l'échantillon pour le fixer en vue de son étude histologique, il est nécessaire de s'assurer, par un examen bactériologique, qu'il est resté aseptique; il faut donc en détacher des fragments qu'on introduit dans des bouillons de culture. Il y a là un double inconvénient ; il intervient, du fait de ces reports, de nouvelles chances de contamination et on n'est pas toujours certain que le développement de microorganismes dans le bouillon de contrôle corresponde à une

Digitized by Google

contamination de l'organe pendant l'expérience ; et surtout, à moins de développement intense de microorganismes visibles à l'extérieur, on n'est renseigné sur l'asepsie ou la contamination de l'organe étudié qu'à la fin de l'expérience, et celle-ci peut durer plusieurs mois. Aussi, à moins d'y être obligés par la nature ou la petitesse de l'organe, avons-nous employé le plus souvent une seconde méthode.

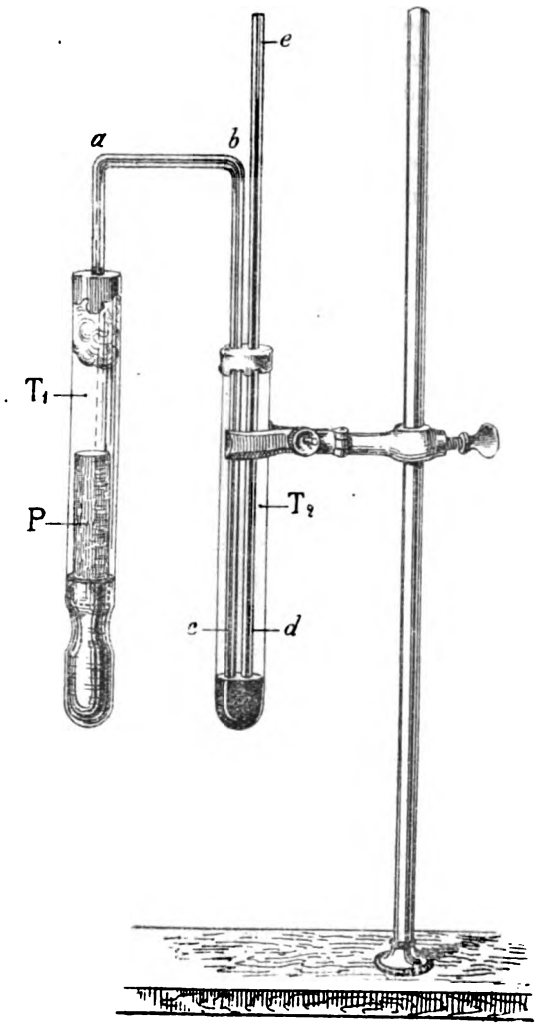


Fig. 32. — Appareil pour l'étude de la fermentation propre (organes volumineux découpés à l'emporte-pièce).

Deuxième méthode. — Celle ci consiste à introduire dans un tube étranglé à sa partie inférieure, tels que ceux dont on se sert pour les cultures sur tranches de pommes de terre, une portion, découpée aseptiquement, de l'organe à étudier et à laisser reposer celle-ci par sa partie inférieure dans un bouillon de contrôle. Ce dernier restant ainsi en contact, et d'une manière constante, avec le tissu dont on veut étudier les modifications histologiques, témoignera à chaque instant de l'asepsie de ce tissu ou montrera s'il est contaminé.

Digitized by Google

Pour découper dans l'organe des morceaux de taille constante et de forme correspondante à celle des tubes où on les place, nous nous sommes servis de l'emporte-pièce qu'on utilise dans les laboratoires de bactériologie pour prélever sur des pommes de terre des fragments ayant la forme d'un demi-cylindre, dont le diamètre n'est que très peu inférieur à celui des tubes de culture. Rappelons qu'il est constitué par un tube de métal qu'on peut manier à l'aide d'une poignée; ce tube est ouvert dans une grande partie de sa longueur où il affecte la forme d'une gouttière semi-circulaire; suivant l'axe de la partie terminale dont la paroi reste entière, se trouve une lame tranchante, comme l'est aussi le bord circulaire du tube; en enfonçant le tube métallique dans le tubercule ou le fruit, on y découpe ainsi deux demi-cylindres. Nous n'avons apporté d'autre modification à cet appareil que la suppression de la lame axiale, de manière à obtenir un cylindre entier.

Pour prélever ce cylindre aseptiquement, on stérilise à l'avance l'emporte-pièce en le chauffant dans une flamme et le laissant refroidir à l'abri des poussières de l'air. On a au préalable découpé dans le fruit du Potiron, par exemple, un massif dont la hauteur est égale à la longueur du tube de l'emporte-pièce; on y pratique de la même manière que précédemment deux sections, l'une assez rapprochée de la face supérieure, et l'autre à une distance de la face inférieure égale à la longueur du tube, dans sa partie non ouverte. Il suffit alors de stériliser, par une lame chauffée, la région de la face supérieure où on appliquera le bord de l'emporte-pièce, de faire pénétrer celui-ci dans l'organe jusqu'à la face inférieure, puis de le retirer, pour avoir dans la partie ouverte un fragment cylindrique prélevé aseptiquement, dont aucune région n'a été stérilisée par la chaleur, et qu'il reste à introduire avec une pince stérile dans le tube T (fig. 32), à la partie inférieure duquel se trouve le bouillon de contrôle (1).

(1) Cette méthode de prélèvement aseptique d'un massif vivant est susceptible de plusieurs applications d'une certaine importance, et nous avons commencé une série de recherches qui ne peuvent être menées à bien que grâce à une technique de cet ordre.

C'est ainsi qu'on peut espérer réaliser par cette méthode la culture d'organismes parasites dans des conditions rigoureuses d'asepsie sur un milieu vivant approprié; nous avons réussi de cette façon à cultiver le *Phytophthora infestans*

Digitized by Google

Pour suivre le dégagement du gaz carbonique pendant la fermentation il suffit de repousser légèrement dans l'intérieur du tube le tampon d'ouate qui le ferme, après l'avoir soumis à l'action d'une flamme, et d'adapter à l'aide de mastic Golaz un bouchon traversé par un tube formant manomètre.

Lorsque l'expérience dure plusieurs mois, la pression peut devenir considérable (plusieurs atmosphères) à l'intérieur de l'appareil, car le volume de gaz dégagé est très grand par rapport au volume d'air initial. Le tube pourrait éclater ou le mastic céder à cette pression ; pour parer à cet inconvénient nous avons fait aboutir le tube de dégagement *abc* à un second tube à essai T_2 contenant à sa partie inférieure un peu de mercure; dans ce mercure plongent à la fois le tube de verre *bc* provenant de l'appareil et un second tube droit *de* assez long (Fig. 32); ces deux tubes traversent un bouchon qui ferme le second tube à essai et qui est soigneusement mastiqué. Le gaz carbonique formé dans le premier appareil se dégage ainsi dans une enceinte fermée et la pression à l'intérieur de cette enceinte est mesurée par la hauteur du mercure dans le tube ouvert.

Bouillon de contrôle. — On ne fait baigner dans ce bouillon que la partie inférieure du cylindre découpé et c'est dans la partie supérieure qu'on prélève des fragments destinés à l'observation microscopique ; on se met ainsi à l'abri de l'action que le bouillon peut exercer sur les cellules qui sont à son contact ; nous avons reconnu en effet que cette action n'est pas négligeable.

sur des cylindres de Pomme de terre vivante (*); grâce à ces premières cultures pures obtenues sur milieu vivant nous avons pu réaliser le développement du *Phytophthora infestans* sur milieu stérile non vivant.

L'action morphogénique des parasites sur les tissus qu'ils envahissent peut également, grâce à cette méthode, être étudiée avec sécurité, et nous avons pu de même faire agir sur des tissus vivants les produits de sécrétion de parasites facultatifs, tels que le *Botrytis cinerea*, et commencer l'étude de leur action en dehors du parasite lui-même.

Les phénomènes de cicatrisation chez les végétaux pourront aussi être étudiés de la sorte dans des conditions rigoureuses d'asepsie ; nous avons pu laisser dans des tubes des cylindres de Pomme de terre, de Carotte, de Navet, de Betterave, pendant plusieurs mois ; ils y continuaient leur développement et présentaient des phénomènes de bourgeonnement superficiel sur l'étude desquels nous comptons revenir.

(*) Sur la culture pure du *Phytophthora infestans* (Bull. Soc. Mycol. Fr. 1901, XVI, p. 209).

Digitized by Google

Quant à la nature du bouillon, nous l'avons variée autant que possible ; mais d'une manière générale nous avons cru nous mettre dans les meilleures conditions possibles, pour déceler les différents organismes qui peuvent exister là, en employant un mélange de bouillon de viande et de bouillon de l'organe sur lequel on expérimente ; ce mélange peut permettre le développement d'organismes existant à l'intérieur de l'organe lui-même, en même temps que celui des êtres microscopiques qui peuvent être entraînés accidentellement à la surface du cylindre en expérience. Nous avons employé des bouillons légèrement acides, neutres ou légèrement alcalins, à des températures variant entre la température du laboratoire et 33°. Enfin nous avons reconnu qu'il ne faut pas toujours se contenter de vérifier si le bouillon de contrôle reste limpide, mais procéder sur lui à un examen microscopique, certaines bactéries pouvant laisser les bouillons parfaitement clairs.

Du degré d'asepsie des fruits et des tubercules. — Nous avons cru devoir décrire avec quelque détail les procédés employés dans notre travail, car au début nous avons éprouvé de grandes difficultés pour obtenir parfaitement exempt de microorganismes un morceau d'un organe quelque peu volumineux ; nous nous trouvions de plus accidentellement en présence de l'importante question de l'asepsie des organes végétaux. Les résultats de nos recherches sont à cet égard assez différents suivant que l'on considère des fruits tels que le Potiron, le Melon d'eau, ou des tubercules tels que la Betterave.

Pour le Potiron mûr, par exemple, non seulement on vérifie facilement que des morceaux de 1 cc. sont le plus souvent entièrement aseptiques, mais encore des morceaux tels que ceux que l'on prélève avec l'emporte-pièce dont nous avons parlé et qui ont un volume d'environ 12 cc. sont, dans plus de la moitié des cas, complètement exempts de microorganismes : cela résulte de plus de 100 expériences montées d'après la seconde méthode. L'intérieur du fruit est donc dans sa grande masse dépourvu de tout être étranger (1).

(1) Il en est de même des graines, que nous avons, chemin faisant, soumis à des essais bactériologiques et qui, encore renfermées à l'intérieur du fruit non ouvert, se sont montrées entièrement aseptiques ; on aurait là peut-être la méthode la plus sûre de se procurer des graines stériles, sans avoir besoin de faire intervenir aucun antiseptique.

Digitized by Google

Il n'en est plus de même pour les tubercules et particulièrement pour celui de la Betterave; nous avons bien pu vérifier que des morceaux de 1 c. c. environ, prélevés sur de jeunes tubercules de Betterave, ne contaminent les bouillons de contrôle que dans la proportion de 50 °/₀, mais nous n'avons jamais pu obtenir des morceaux de 12 c. c. absolument indemnes de moisissures ou de bactéries ; la proportion des bouillons restant purs, pour des morceaux de faible volume mis en expérience, s'abaisse beaucoup pour les tubercules arrivés à leur taille maxima, et en répétant de nombreux essais sur de tels tubercules le résultat le plus satisfaisant que nous ayons obtenu a été le prélèvement d'un cylindre de 12 c c. qui n'a donné naissance qu'à une petite colonie de bactéries; le développement de celle-ci s'est arrêté rapidement pendant la fermentation propre du fragment de tubercule sur lequel elle avait apparu.

Ces essais ont été effectués tantôt à l'air libre, tantôt dans une atmosphère dépourvue d'oxygène par la respiration même de l'organe, de telle sorte que les êtres anaérobies et aérobies pouvaient être également décelés.

Les tubercules nous apparaissent donc, comme les fruits, capables de présenter des portions, plus ou moins volumineuses, parfaitement dépourvues d'êtres étrangers; mais ceux-ci se trouvent beaucoup plus communément dans les tubercules que dans les fruits. Cette contamination plus fréquente paraît être en relation avec la nature souterraine des tubercules.

Quelle est la nature des organismes qui apparaissent ainsi, avec des degrés de fréquence variables, dans les divers organes charnus que nous avons étudiés? Il faut d'abord mettre à part les moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucorinées*, etc.) et les bactéries banales qui proviennent du fait des manipulations et qu'on n'observe en somme qu'assez rarement. Pour les autres organismes, ceux qui se trouvent dans le fruit ou dans le tubercule avant la prise, il est intéressant de remarquer qu'ils ne sont pas quelconques; ils semblent nettement en rapport avec la nature spécifique de l'organe.

C'est ainsi que nous avons presque exclusivement rencontré, dans le Potiron une bactérie à colonies blanches, qui se rassemble au fond des bouillons de culture, dans le Melon d'eau une bactérie excrétant un pigment rose; pour les morceaux de Betterave, les

Digitized by Google

organismes sont un peu plus variés, mais cependant il en est qu'on retrouve avec beaucoup plus de fréquence que les autres ; nous avons ainsi très souvent observé une bactérie qui forme à la surface des cylindres de Betterave en expérience un enduit limoneux gris; son développement débute ordinairement sur les morceaux de Betterave dans les régions de la section où viennent aboutir les cordons de tissu vasculaire; elle semble ainsi se propager par les vaisseaux du bois.

Il nous paraît qu'il y a, dans la présence, à l'intérieur des fruits ou des tubercules, d'organismes qui sont de nature déterminée, un fait méritant d'être signalé ; il semble qu'on ait affaire à de véritables associations et nous aurons l'occasion de voir un peu plus loin qu'elles ne sont pas négligeables au point de vue physiologique.

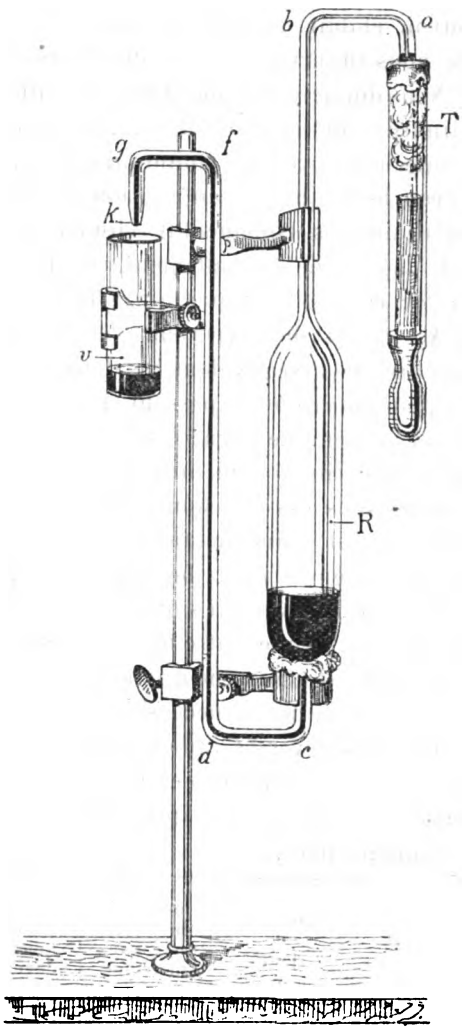


Fig. 33. — Appareil permettant de mesurer le volume des gaz dégagés pendant la fermentation propre.

Marche générale du phénomène de la fermentation propre dans le cas d'échantillons aseptiques. — Grâce aux méthodes qui ont été décrites, et particulièrement grâce à la seconde, nous avons pu vérifier que le phénomène de la fermen-

Digitized by Google

tation propre se produit bien, même en l'absence de tout microorganisme, et nous avons dans un certain nombre de cas mesuré les volumes de gaz carbonique dégagé dans les appareils, afin de pouvoir établir un parallèle entre les modifications histologiques que nous observions et les différents stades de la fermentation.

Nous donnerons d'abord les indications que nous a fournies un cylindre de Betterave de 12 cc., placé dans un tube étranglé à sa partie inférieure ; ce tube communiquait avec un tube capillaire en U ; la branche *bc* qui était en relation directe avec le tube à culture présentait un gros renflement R cylindrique de 150 cc. ; l'autre branche *dfgk*, dépourvue de renflement, se terminait par une partie recourbée *fgk*, comme l'indique la fig. 33.

Au début de l'expérience, tout cet appareil était rempli de mercure, les niveaux dans les deux branches étant disposés dans le plan horizontal passant par *k*. On mesurait les volumes de gaz carbonique dégagé en jaugeant le mercure qui se déversait par l'extrémité *k* dans un petit vase *v* ; ces volumes étaient ainsi mesurés sous des pressions croissantes puisque le niveau du mercuré baissait d'une manière constante dans le réservoir et qu'il restait le même dans la branche par laquelle il se déversait.

Dans le tableau qui suit on a porté dans une première colonne les dates, dans une autre figurent les pressions *h* du mercure dans la branche *df*, dans une quatrième les volumes de mercure déversés entre deux dates successives ; les autres colonnes contiennent les volumes déversés ramenés par le calcul à la pression initiale supposée égale à 76 cm.) et les volumes totaux déversés à partir du début de l'expérience, après qu'ils ont été ainsi ramenés à la pression normale.

Date	Nombre de jours	Pression *h* du mercure dans le tube manométrique	Volumes de mercure déversés	Volumes déversés ramenés à la pression 76	Volumes totaux correspondant à la pression 76
Janvier 11	»	»	»	»	»
» 13	»	»	»	»	»
» 20	7	10cm8	14cc4	16cc5	16cc5
» 30	17	13.7	24.8	29.3	45.8
Mars 6	52	18.6	38	47.2	93
Avril 30	107	19	34.9	43.7	136.7
Mai 16	123	19.5	5 8	7.3	144
Juin 1	139	20	2.4	3	147
Juillet 1	192	20	»	»	147

Digitized by Google

Ce sont ces résultats qui sont également indiqués par la courbe ci-contre (Fig. 34), où on a porté en abscisses des longueurs proportionnelles aux temps et en ordonnées des longueurs proportionnelles aux volumes de gaz carbonique dégagés.

L'expérience qui nous occupe avait débuté le 11 janvier et ce n'est que 48 heures après que, le phénomène respiratoire ayant fait place à la fermentation propre, les niveaux du mercure dans les deux tubes s'étaient retrouvés dans un même plan horizontal.

Le morceau de Betterave pour lequel nous venons de tracer la courbe de fermentation propre n'était pas entièrement aseptique,

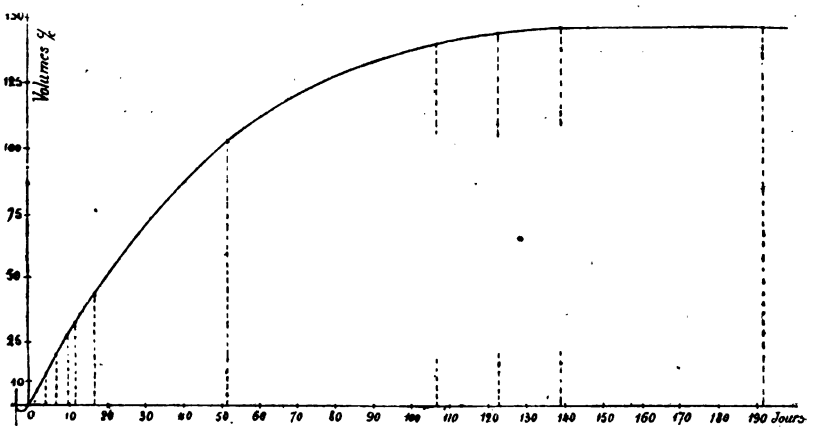


Fig. 34. — Courbe représentant les volumes de gaz dégagés par un morceau de Betterave soumis à la fermentation propre.

mais était de ceux dans lesquels nous n'avons observé qu'une petite colonie superficielle de bactéries qui n'intervient pas dans le phénomène ; qu'il nous suffise de dire qu'avec un morceau de Potiron rigoureusement exempt de microorganismes le phénomène est de tout point comparable.

Lorsqu'on ne prend, comme nous venons de le faire, que des points suffisamment éloignés l'un de l'autre, on peut les joindre par une courbe très régulière, les variations dues à des causes accessoires se trouvant éliminées ; cette courbe donne bien le sens général du phénomène et c'est ce qui nous importe le plus ici.

Joignons cependant au premier tableau et à la courbe correspondante que nous venons de fournir d'autres résultats qui nous mon-

Digitized by Google

tréront dans quelle mesure interviennent les causes secondaires de variations.

Pour un second tube contenant un morceau de betterave comparable au précédent et qui était relié à un appareil à déversement semblable à celui de la figure 33, avec cette seule différence que la branche *df* était très courte et que le déversement du mercure s'effectuait sous des pressions inférieures à la pression atmosphérique, nous avons obtenu les nombres portés au tableau suivant, correspondant à une période de sept jours ; l'expérience avait été, comme la précédente, commencée le 11 janvier et la pression primitive avait été atteinte à nouveau le 13 :

Dates	Heures	Hauteur *h* du mercure dans le tube manométrique	Volumes totaux déversés sous la pression de 76-*h*	Volumes totaux ramenés à la pression de 76cm
Janvier 14	10 m.	15cm3	2cc	1cc65
» 15	9 m.	15	4.4	3.6
» »	5 s.	14.5	6.2	5
» 16	9 m.	14.1	7.5	6.15
» »	5 s.	14	9.4	7.85
» 17	9 m.	13.8	10.8	8.85
» »	4 s.	13.5	12.5	10.25
» 18	10 m.	13.25	14.30	11.9
» »	5 s.	13 15	15.25	12.65
» 19	10 m.	12.95	16.55	13.75
» »	5 s.	12.8	17.7	14.7
» 20	10 m.	12.55	19.8	16.8
» »	4 s.	12.4	21.1	17.75
» 21	9 m.	12.1	22.6	19

La courbe correspondant à ce tableau et qui est représentée dans la figure 35 par un trait plein, nous apparaît comme sinueuse ; les sinuosités ne sont pas d'ailleurs quelconques et il est nettement visible qu'elles sont en relation avec les heures de chaque jour ; au début de la journée, vers neuf heures, la courbe se relève pour s'abaisser vers la fin de la journée, à partir de six heures environ ; la cause de ces variations réside évidemment dans ce fait que l'appareil, placé dans une salle de laboratoire chauffée dans la journée, subissait des variations assez grandes de tempé-

Digitized by Google

rature, dont l'effet se traduisait de deux manières : en produisant dans le jour une dilatation des gaz et une diminution dans la quantité des gaz dissous qui amenaient une sortie plus abondante de mercure et en agissant sur le phénomène même de la fermentation ; nous verrons en effet un peu plus loin que cette seconde action n'est pas négligeable.

La courbe que nous venons d'obtenir représente nettement un phénomène moyen qui se traduirait par la courbe tracée en ligne

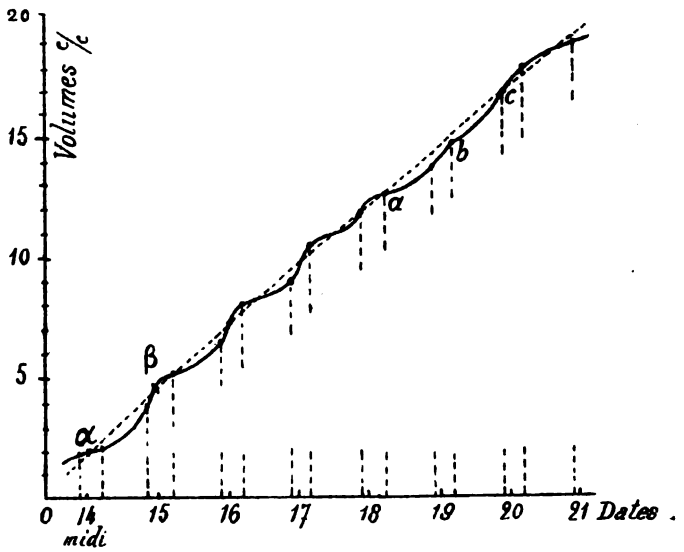


Fig. 35. — Variations journalières de la fermentation propre (Betterave).

pointillée et qui se trouve être une portion, représentée à une plus grande échelle, de la première courbe que nous avons donnée. Cette courbe pointillée moyenne coupe assez régulièrement deux fois par jour (en α et β) la courbe réelle, sauf en certaines régions, telles que *abc*, où cette dernière reste d'un même côté de la courbe moyenne ; de semblables portions correspondent évidemment à des variations dans la pression atmosphérique, variations dont nous n'avons pas cru utile de tenir compte.

Nous avons répété ces mesures sur de nombreux échantillons de Potiron et les résultats sont toujours rigoureusement compara-

Digitized by Google

bles, du moins lorsque les échantillons en expérience sont aseptiques.

Le premier tableau que nous avons donné montre qu'un morceau de Betterave, pesant environ 12 gr., dégage en tout 147 cc. de gaz carbonique, mesuré sous la pression normale ; or, si l'on calcule le volume de gaz carbonique qui se dégagerait d'un tel morceau, en supposant que tout le sucre qu'il contient soit décomposé en gaz carbonique et alcool, et en prenant pour base du calcul la teneur de 10 °/₀ en sucre, résultat moyen des analyses faites par les agronomes sur des Betteraves analogues à celles qui nous ont servi dans nos expériences, on trouve qu'il se formerait environ 320 cc. de gaz, soit plus du double de la quantité totale que nous avons observée. Tout le sucre n'est donc pas utilisé pendant le phénomène ; c'est par la mort des tissus que ce phénomène prend fin, cette mort ne résultant pas, comme on pourrait le croire *à priori*. au contraire, de la disparition totale du seul aliment qui puisse être utilisé dans la vie anaérobie.

Aspect des échantillons qui ont été soumis à la fermentation propre. — Les morceaux de Betterave et de Potiron, pour ne parler que des organes sur lesquels ont porté le plus grand nombre de nos expériences, se comportent de manière très comparable en ce qui concerne leur aspect extérieur, qui reste indéfiniment le même, lorsqu'aucun organisme n'intervient. Ils gardent à très peu de chose près leur consistance primitive et ne se déforment absolument pas ; *leurs cellules ne se désagrègent nullement*, et, dans cette mort aseptique, à l'intérieur d'une atmosphère privée d'oxygène, la couleur blanche de la Betterave et la couleur orangée du Potiron se conservent indéfiniment ; la seule différence, d'ailleurs minime, qu'on puisse observer entre un échantillon frais et un échantillon comparable qui a subi la fermentation propre, consiste en ce que ce dernier devient un peu plus transparent, et cela est surtout appréciable pour la Betterave,

Nous avons ainsi conservé depuis le début de nos expériences, qui remonte à trois ans et demi environ, des morceaux de Betterave et de Potiron dont l'aspect diffère très peu de celui qu'ils présentaient le jour où on les a enfermés dans l'appareil.

La conservation de la couleur est apparue, dans nos expériences, comme nettement due à l'absence d'oxygène. Lorsqu'on laisse en

Digitized by Google

effet pénétrer de l'oxygène dans les tubes où la fermentation propre s'est produite pendant quelque temps, le morceau de Potiron se décolore peu à peu, comme cela a lieu d'ailleurs pour des morceaux cuits de ce fruit laissés au contact de l'air : cette action de l'oxygène sur les chromoleucites est accélérée par la lumière; c'est ainsi que le côté des morceaux de Potiron exposé directement à la lumière, est beaucoup plus rapidement décoloré que le côté opposé.

En ce qui concerne la Betterave, c'est encore à l'absence d'oxygène qu'il faut rapporter la conservation de la couleur blanche des morceaux laissés dans l'atmosphère qu'ils ont transformée. Sitôt en effet qu'on laisse rentrer de l'oxygène, même en très faible quantité, dans les tubes, le morceau de Betterave noircit énergiquement, comme cela a lieu pour des morceaux du même organe laissés dès le début au contact de l'air ; cette coloration est due à l'oxydation de la tyrosine qu'elle renferme et elle se produit, ainsi que l'a montré M. Gabriel Bertrand, par l'action d'une diastase oxydante, la tyrosinase, qui existe normalement dans le suc de la Betterave. MM. Lechartier et Bellamy avaient observé un phénomène analogue pour des pommes soumises à l'asphyxie (1).

Ajoutons encore que pendant la fermentation propre des organes étudiés, il ne se produit plus aucune division de cellules, ce qui distingue très nettement les morceaux d'organes qui vivent d'une manière anaérobie de ceux que l'on laisse au contact indéfini de l'air, dans un tube de culture simplement bouché par un tampon d'ouate; ceux-ci présentent en effet à la surface, et à une profondeur variable suivant la nature spécifique et l'âge de l'organe, des divisions cellulaires actives qui apparaissent comme constituant un phénomène de cicatrisation ; il n'y a pas trace de ces cloisonnements cicatriciels à la surface des fragments de végétaux subissant la fermentation propre, ce qui achève de leur laisser leur aspect primitif.

Notons enfin que lorsqu'on ouvre un tube où s'est produit le phénomène de la résistance à l'asphyxie on perçoit nettement une odeur d'alcool à laquelle se superpose dans le cas du Potiron celle d'un éther. En saponifiant par la potasse, on obtient une odeur très analogue, sinon identique, à celle du valérianate de potassium ; c'est donc l'éther valérianique qui paraît se former, comme produit secondaire, dans la fermentation propre du Potiron.

(1) De la fermentation des fruits (C. R. 1872, t. 75, p. 1203).

Digitized by Google

Action de la température sur la vitesse du phénomène. — Le dégagement de gaz carbonique varie très sensiblement avec la température ; il est facile de le montrer en plaçant deux appareils identiques à des températures constantes, telles que 12° pour l'un, 18° pour le second, et de constater qu'à cette dernière température le dégagement gazeux est plus rapide : on peut le constater également en laissant un appareil exposé aux variations diurnes de la température ; si on adapte un manomètre à air libre on obtient, par la représentation graphique des indications de celui-ci, une courbe sinueuse analogue à celle que nous avons tracée plus haut (fig. 35) ; pour faire le départ entre l'action de la température sur le phénomène même et les variations de volumes dues à la dilatation du tube et des gaz qui sont contenus, pour corriger également les erreurs dues aux changements de la pression atmosphérique, nous nous sommes dispensés de tout calcul en notant les indications d'un appareil témoin dans lequel il n'était pas introduit d'organe vivant et qui contenait un volume de gaz égal à celui qui se trouvait dans l'appareil contenant un morceau de Potiron ; les mesures effectuées sur ces deux appareils sont portées dans le tableau suivant :

Dates	Heures	Température	Appareil a fermentation		Appareil témoin		Valeurs de H-*h*
			pressions en cm.	différences avec la pression initiale H	pressions en cm.	différences avec la pression initiale *h*	
Janvier 5	midi	15°	— 3.3	»	— 2.2	»	»
» »	6 s.	19°5	— 2.9	+ 0.4	— 1.5	+ 0.7	— 0.3
» 6	9 m.	12°	— 5.3	— 2	— 3.2	— 1	— 1
» »	6 s.	11°	— 5.9	— 2.6	— 3.4	— 1.2	— 1.4
» 7	9 m.	10°5	— 7.15	— 3.85	— 3.95	— 1.75	— 2.1
» »	6 s.	18°5	— 5	— 1.70	— 1.55	+ 0.65	— 2.35
» 8	9 m.	14°5	— 6.9	— 3 6	— 2.6	— 0.4	— 3.2
» »	6 s.	18°	— 5.1	— 1.8	— 1.5	+ 0.7	— 2 5
» 9	9 m.	15°5	— 5.3	— 2.0	— 2 3	— 0.1	— 1 9
» »	6 s.	18°	— 3	+ 0.30	— 1.45	+ 0.75	— 0.45
» 10	9 m.	16°	— 3.6	— 0.3	— 2.5	— 0.3	0
» »	6 s.	19°5	— 1.1	+ 2.2	— 1.5	+ 0.7	+ 0.15
» 11	9 m.	16°	— 1	+ 2.3	— 2.3	— 0.1	+ 2 4
» »	6 s.	18°	+ 0 70	+ 4	— 2	+ 0.2	+ 3.8
» 12	9 m.	15°	+ 0.25	+ 3.35	— 3.35	— 1.15	+ 4.7
» »	6 s.	18°	+ 3	+ 6.3	— 2.4	— 0.2	+ 6.5
» 13	9 m.	10°	+ 2.3	+ 5.6	— 4.1	— 1.9	+ 7.5

Digitized by Google

La courbe correspondante (figure 36) montre bien que, toute correction ainsi effectuée expérimentalement, l'élévation de la température favorise la fermentation propre; ce résultat est d'ailleurs tout à fait conforme à ce que l'on sait sur la fermentation produite par les levures et à ce qu'ont observé de leur côté MM. Lechartier et Bellamy (1) pour la fermentation propre des fruits.

Mais si on continue à élever la température, si on porte, par exemple, un tube, contenant un morceau de Potiron en atmos-

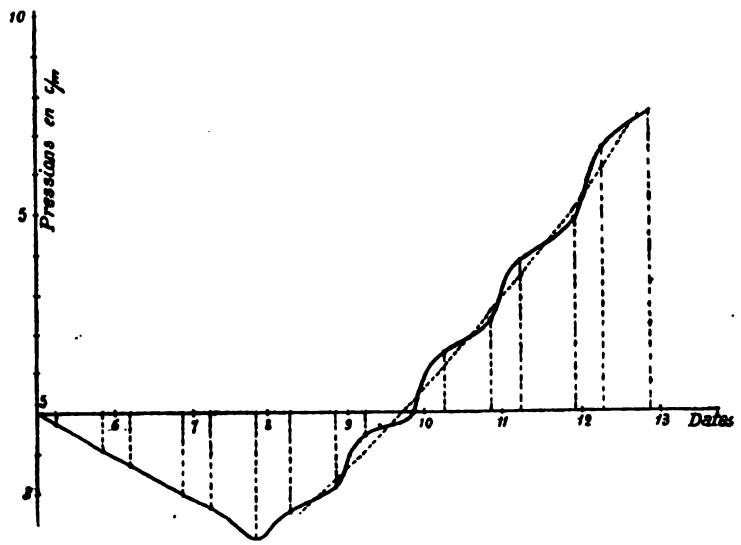


Fig. 36. — Variations de la fermentation propre ; le trait plein sinueux montre l'action journalière de la température.

phère confinée, dans une étuve à 33°, on ne tarde pas à constater que le phénomène de la fermentation cesse bien vite complètement pour ne plus reprendre quand on replace l'appareil à la température de 15° environ ; nous verrons qu'à cette température de 33° les cellules sont mortes, après avoir subi des phénomènes particuliers de dégénérescence.

Influence de l'âge de l'organe étudié. — L'intensité du phénomène varie aussi, comme il est facile de le prévoir, avec l'état de dévelop-

(1) *De la fermentation des fruits*, C. R. 1869, T. 69, p. 356.

Digitized by Google

pement de l'organe ; c'est ainsi que, dans des conditions comparables, des morceaux de Potiron de même volume, prélevés, les uns au mois de septembre sur des fruits qui n'avaient pas atteint leur entier développement, ne mesuraient que 15 cm. environ de diamètre équatorial, dont la pulpe était encore à peu près complètement homogène, d'un blanc jaunâtre mêlé de vert, les autres au mois de mars sur des fruits conservés depuis l'automne précédent, ont dégagé, au bout de 10 jours, des quantités de gaz carbonique qui se trouvaient être sensiblement dans le rapport de 3 à 1.

Ce ralentissement du phénomène de la résistance à l'asphyxie avec la maturation du fruit semble être d'ailleurs en relation avec un ralentissement de la fonction respiratoire ; alors que les premiers échantillons absorbent tout l'oxygène contenu dans les tubes en moins de 24 heures, cette absorption n'a lieu pour les seconds qu'au bout de 2 ou 3 jours.

Il en est de même pour la Betterave ; des échantillons de tubercules qui, arrachés au commencement de septembre, étaient loin d'avoir atteint leur taille maxima, déterminaient au bout de 8 jours une pression de 30 cm. de mercure ; des échantillons analogues provenant de Betteraves conservées jusqu'au mois de mars ne donnaient au bout du même temps qu'un accroissement de pression de 10 cm. de mercure environ.

Aspect du phénomène dans le cas où les échantillons soumis à l'asphyxie ne sont pas aseptiques. — Nous avons supposé jusqu'ici ou bien que les morceaux soumis à l'expérience étaient entièrement aseptiques (c'est le cas du Potiron), ou bien qu'ils ne présentaient qu'un faible développement, en une région très limitée, de microorganismes n'intervenant pas dans le phénomène ; c'est ce qui s'est produit dans les échantillons les plus satisfaisants (au point de vue de l'asepsie) que nous ayons pu prélever sur des Betteraves. Mais nous avons déjà vu qu'il n'en était pas toujours ainsi et il n'est pas sans intérêt de se rendre compte de la manière dont les microorganismes se comportent dans les expériences. Nous avons pu à cet égard distinguer trois cas très différents : certains microorganismes peuvent empêcher le phénomène de la fermentation propre, d'autres, au contraire, l'accélérer, d'autres encore, lui superposer une autre réaction chimique.

Digitized by Google

A).— *Bactéries empêchant le phénomène de la fermentation propre.*— Dans plusieurs expériences faites avec des morceaux de Potiron, découpés suivant le premier procédé décrit et introduits dans des flacons stériles, nous avons observé que le niveau du mercure à l'intérieur du tube qui reposait sur ce liquide à l'air libre, après s'être graduellement élevé (phase respiratoire et dissolution de gaz carbonique), restait indéfiniment stationnaire, indiquant que le phénomène de la fermentation propre ne se produisait pas ; nous avons alors introduit dans le tube une solution concentrée de potasse ; le niveau du mercure s'est élevé de 15 cm. environ (1/5 d'atmosphère), c'est-à-dire de la hauteur correspondant à la disparition totale de l'oxygène primitivement contenu dans le flacon ; tout l'oxygène a donc été absorbé, mais il n'y a pas eu de dégagement consécutif de gaz carbonique.

Il fut facile de vérifier que dans toutes les expériences qui donnaient ces résultats il s'était produit un développement de bactéries ; celles-ci déterminaient la mort rapide des tissus du Potiron, à un moment où la phase respiratoire n'était pas encore terminée ; l'oxygène que le morceau de Potiron n'avait pas employé était utilisé par la bactérie, et celle-ci d'autre part se trouvait être incapable de déterminer par la suite la fermentation alcoolique du glucose en présence duquel elle se trouvait.

C'est peut-être dans un phénomène semblable qu'il faut voir l'explication de certaines expériences de M. Denys Cochin (1) faites sur la Betterave et dans lesquelles cet auteur ne constatait aucune fermentation propre ; il ne nous semble pas que les insuccès qu'il a obtenus puissent s'expliquer par l'état de développement des tubercules, car nous avons montré que ceux-ci peuvent produire un dégagement de gaz carbonique dès le mois d'août, alors qu'ils sont encore très jeunes et à peine arrivés au tiers de leur taille maxima, ainsi qu'à toutes les époques ultérieures, jusqu'au printemps suivant; ce n'est donc pas à l'absence de sucrase, dans un tubercule trop jeune, qu'il faut rapporter cette absence de fermentation propre ; le cas que nous venons de signaler pour le Potiron, et où la sucrase n'a pas à intervenir, nous paraît expliquer ces exceptions apparentes d'une manière très satisfaisante.

(1) Voir E. Duclaux : *Traité de Microbiologie*, t. III, p. 50.

Digitized by Google

B). — *Bactéries accélérant le phénomène de la fermentation propre.* — Dans d'autres cas, au contraire, on constate que certains tubes contaminés présentent un dégagement gazeux beaucoup plus rapide que pour les tubes restés aseptiques ; c'est ainsi que dans une série de huit tubes où étaient enfermés des morceaux de Potiron, sept se sont montrés comme étant aseptiques, le huitième a présenté un abondant développement de bactéries ; or, les premiers

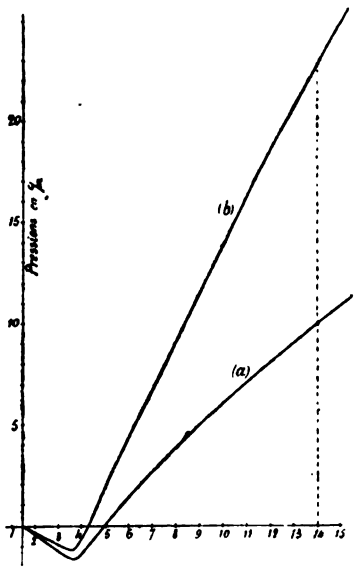


Fig. 37. — Courbes représentant les pressions du gaz dégagé par deux cylindres de Potiron de même volume : (*a*), échantillon aseptique ; (*b*), échantillon contaminé par une bactérie.

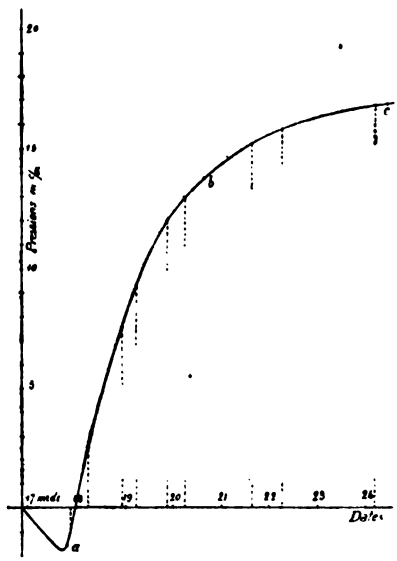


Fig. 38. — Courbe représentant les pressions du gaz dégagé par un cylindre de Betterave cuit et ensemencé par une bactérie ferment alcoolique.

se sont comportés d'une manière très analogue au point de vue des changements de pression ; au bout de 14 jours, l'augmentation de pression à leur intérieur équivalait à une colonne de mercure de 10 cm. environ ; dans le tube contaminé elle était au bout du même temps égale à un peu plus du double. Nous avons tracé ci-contre (fig. 37), les deux courbes donnant le sens général du phénomène, pour les échantillons aseptiques (courbe *a*) et l'échantillon où se sont développées des bactéries (courbe *b*).

Digitized by Google

Nous avons observé des résultats tout à fait analogues pour les morceaux de Betterave et nous avons vérifié dans ce second cas que c'est bien à la présence de bactéries qu'il fallait rapporter cet accroissement dans la rapidité du phénomène, en un mot, que ces bactéries étaient capables de produire la fermentation alcoolique.

Pour cela nous avons ensemencé sur un morceau de Betterave cuit et stérilisé à l'autoclave la bactérie qui s'était développée sur un morceau de Betterave soumis à l'asphyxie et ayant présenté un dégagement de gaz carbonique plus actif que les autres ; le tube de culture était en relation avec un second tube servant de manomètre tel que nous l'avons décrit et représenté par la figure 32 : les indications de ce manomètre sont rapportées dans le tableau qui suit, et on a calculé d'autre part les pressions qui se seraient exercées dans le tube de culture s'il avait été directement en relation avec un tube unique manométrique ; il suffisait pour cela de connaître les volumes de gaz contenus dans le tube de culture et dans le tube accessoire.

DATES	HEURES	HAUTEUR du mercure dans le tube de culture	HAUTEUR du mercure dans le tube accessoire	HAUTEURS calculées pour le tube de culture
Janvier 17	9 m.	»	»	»
» 18	9 m.	— 10mm	»	— 10mm
» »	6 s.	+ 28	»	+ 28
» 19	9 m.	»	+ 26mm	71
» »	6 s.	»	35	96
» 20	10 m.	»	44.5	122
» »	4 s.	»	47	129
» 21	10 m.	»	50	137
» 22	5 s.	»	57	157
» 24	4 s.	»	61	168
Mars 2	»	»	75	206

La courbe représentative de ces résultats (figure 38) montre que la pression s'accroît très rapidement au début pour devenir au bout de 7 jours presque invariable ; il semble que les bactéries introduites au contact du morceau de Betterave aient décomposé très rapidement tout le glucose qui se trouvait dans le liquide et à la surface de l'organe (portion *a b* de la courbe), mais qu'elles se soient

Digitized by Google

montrées incapables de transformer le saccharose qui ne se trouvait pas interverti.

Nous avons obtenu des résultats analogues en ensemençant la bactérie ferment alcoolique isolée des cultures précédentes sur du jus exprimé de la Betterave et stérilisé.

C). — *Bactéries produisant un phénomène autre que celui de la fermentation alcoolique.* — Il peut enfin se trouver, dans les organes étudiés, des bactéries qui produisent un dégagement gazeux autre que celui d'anhydride carbonique. C'est ainsi que pour la Betterave nous avons plusieurs fois rencontré des échantillons qui donnaient naissance, après la phase respiratoire, à un abondant développement de bactéries produisant un enduit gluant à leur surface ; elles ne tardaient pas à produire la mort des tissus et on observait dans l'appareil un dégagement assez abondant de bioxyde d'azote. Nous étions en présence d'une bactérie anaérobie se comportant comme un ferment dénitrifiant et agissant vraisemblablement sur les azotates et les azotites que contiennent les tissus de la Betterave (1). Nous avons isolé et cultivé cette bactérie anaérobie.

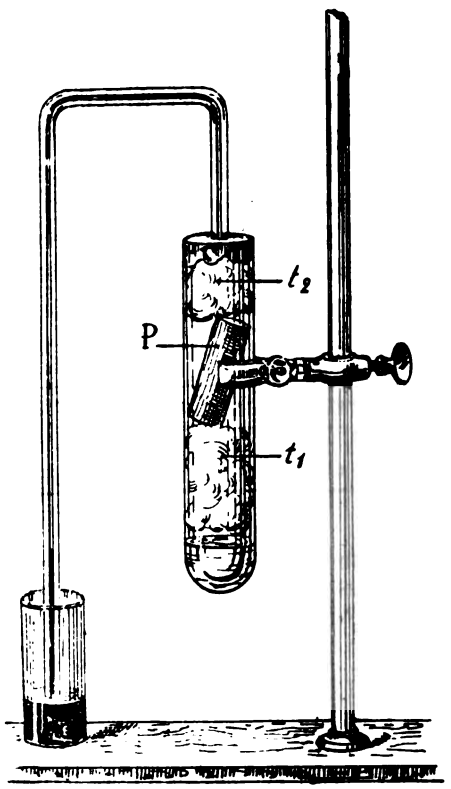


Fig. 39. — Dispositif permettant le retour à la vie aérobie d'échantillons ayant subi la fermentation propre.

(1) MM. Gayon et Dupetit ont isolé déjà plusieurs bactéries dénitrifiantes et on sait qu'accidentellement il se dégage, dans les sucreries, du bioxyde d'azote provenant de la décomposition des résidus de Betterave, riches en azotate de calcium.

Digitized by Google

Retour à la vie aérobie. — La question s'est posée pour nous, au cours de notre travail, de savoir si les modifications subies par la cellule lors de la fermentation propre disparaissent quand on met l'organe à même de respirer à nouveau ; un tel retour à la vie aérobie était-il même possible et dans quelle mesure ? C'est ce que nous avons cherché à reconnaître par un certain nombre d'expériences effectuées sur le Potiron.

Le dispositif employé était le suivant : dans un tube de culture assez large (figure 39) on versait une solution concentrée de potasse qu'on isolait par un tampon d'ouate t_1 ; un second tampon t_2 fermait l'ouverture de ce tube lors de sa stérilisation à l'autoclave ; on introduisait ensuite un morceau de Potiron *P*, prélevé aseptiquement par la méthode que nous avons indiquée, dans l'espace laissé libre entre les deux tampons d'ouate, puis on fermait l'appareil à l'aide d'un bouchon soigneusement mastiqué et traversé par un tube de verre deux fois recourbé, débouchant sur le mercure.

Comme le gaz carbonique produit dans l'appareil était à chaque instant absorbé par la potasse, le niveau du mercure dans le tube s'élevait graduellement jusqu'à une hauteur maxima de 15,2 cm. (1/5 d'atmosphère) ; à partir de ce moment la fermentation propre se produisait ; les indications suivantes, fournies pas l'un de ces appareils, montrent qu'au bout de 5 jours la phase respiratoire a

DATES	HEURES	HAUTEUR DU MERCURE DANS LE TUBE
Janvier 26.	4 s.-	0
— 27.	7 s.	3.6 cm.
— 28.	9 m.	6
— 29.	9 m.	10
— 30.	9 m.	13
— 31.	9 m.	15.2
Février 3.	9 m.	15.2

cessé pour faire place à celle qui correspond à la fermentation propre. On laissait alors cette dernière se produire plus ou moins longtemps, puis on faisait plusieurs fois de suite un vide partiel à l'intérieur de l'appareil, en faisant chaque fois rentrer de l'air ; on replaçait l'appareil dans les mêmes conditions qu'au début et on

Digitized by Google

constatait si la respiration avait lieu ou non en observant s'il se produisait ou non une ascension nouvelle du mercure dans le tube.

En fait, l'ascension du mercure a bien lieu en effet, mais d'une manière d'autant plus lente qu'on remet le morceau de Potiron en contact avec l'oxygène à un stade plus avancé de la fermentation propre. Lorsque l'expérience était faite au bout de quelques jours, le phénomène respiratoire se reproduisait, puis après lui le phénomène de la résistance à l'asphyxie ; mais au fur et à mesure qu'on s'éloignait du début de l'expérience la respiration reprenait avec plus de lenteur et pouvait ne plus être suivie de la reprise de la vie anaérobie.

C'est ainsi que dans l'expérience pour laquelle nous venons de rapporter plus haut les dépressions du 26 au 31 janvier, l'atmosphère de gaz carbonique et d'azote a été remplacée par de l'air normal le 28 février, c'est-à-dire après 28 jours de vie anaérobie ; les dépressions, notées à des heures correspondantes aux différentes journées, ont été, à partir de cette date, les suivantes :

Février	28	0cm	Mars	5	8.5
Mars	1	3.5	—	6	9.3
—	2	4.3	—	7	10.5
—	3	5 8	—	8	11.5
—	4	7.0	—	9	11.5

Le phénomène respiratoire a donc recommencé à se produire, mais, pour une même masse d'air, il était complètement terminé au début en 5 jours, alors que la seconde fois l'ascension du mercure au bout de 8 jours n'était que de 11,5 cm. ; c'est celle qu'on avait notée précédemment après 3 jours 1/2 environ de respiration ; de plus, nous voyons que cette dépression de 11,5 cm., a été la dépression maxima observée, c'est-à-dire qu'il restait de l'oxygène dans l'appareil. Les tissus végétaux deviennent donc de moins en moins aptes à utiliser l'oxygène de l'air à mesure qu'ils ont subi la fermentation propre pendant un temps plus long.

Lorsque la respiration s'est ainsi arrêtée avant que tout l'oxygène libre soit employé, il est clair que les tissus sont morts ; cette mort correspondant au retour à la vie aérobie paraît survenir pour les tissus d'un même organe après des temps variables de fermentation propre ; nous avons à cet égard observé que des bulbes d'Oignon, mis à fermenter pendant 20 jours, puis placés à l'air,

Digitized by Google

leur partie inférieure reposant sur l'eau, présentent 10 jours, plus tard, des racines longues de 4 cm. et des feuilles dépassant de plusieurs cm. le sommet du bulbe ; de leur côté les écailles sont tout à fait flétries et manifestement ne sont plus vivantes : les tissus de réserve ont donc moins résisté que les tissus de la région profonde, vraisemblablement parce que leur protoplasma s'est épuisé davantage dans le phénomème de la résistance de l'asphyxie.

Des bulbes semblables aux précédents, retirés au bout d'un mois de l'enceinte où ils avaient subi la fermentation propre, et remis à germer, n'ont plus donné naissance à des racines adventives ; seules les feuilles du bourgeon se sont un peu développées, mais se sont ensuite rapidement flétries.

Nous n'attachons d'ailleurs à ces dernières observations qu'une importance très relative, car il nous a été impossible d'opérer aseptiquement avec des bulbes entiers ; à l'action de la fermentation propre vient s'ajouter dans ce cas celles de bactéries, qui peuvent agir différemment sur les différents tissus et à priori plus énergiquement sur les tissus superficiels de réserve que sur les tissus profonds ; nous avons cependant rapporté ces observations parce qu'elles cadrent avec ce que nous apprendra l'étude microscopique des tissus d'un même organe ayant fermenté à l'abri de tout microorganisme.

Pour résumer en quelques mots la partie expérimentale de cette étude, rappelons les principales conclusions qui s'en dégagent :

1° Il est possible de prélever sur des fruits des échantillons assez volumineux entièrement aseptiques.

2° On éprouve beaucoup plus de difficulté à cet égard lorsqu'on s'adresse à des tubercules.

3° Les organismes qui se rencontrent dans les organes des végétaux étudiés sont le plus souvent nettement en rapport avec la nature de ces organes et l'espèce végétale correspondante.

4° Lorsque le phénomène de la fermentation propre a lieu complètement à l'abri de tout microorganisme, l'échantillon qui en est le siège meurt après avoir utilisé tout ou partie de son sucre et garde indéfiniment son aspect primitif.

5° Au phénomène de la fermentation propre peut se superposer une fermentation alcoolique produite par des bactéries, ou une

Digitized by Google

fermentation toute différente ; dans certains cas la fermentation propre peut ne pas avoir lieu, et cela par le fait de bactéries tuant l'organe en expérience.

6° Le retour à la vie anaérobie est d'autant plus difficile que la fermentation propre a duré un temps plus long.

Toute cette partie expérimentale n'a été entreprise, rappelons-le, qu'en vue de donner la plus grande sécurité aux observations cytologiques : il nous reste à étudier comment les diverses parties de la cellule se modifient lorsque celle-ci est le siège de la fermentation propre, et alors qu'aucun microorganisme ne vient introduire d'action perturbatrice. Une fois que nous aurons reconnu quelles sont les modifications qui proviennent de la vie anaérobie, il nous sera possible de les retrouver dans des organes qui ont mené cette vie, mais en présence de bactéries dont ils n'avaient pu être isolés, et de faire alors le départ entre ces modifications et celles qui trouvent leur raison d'être dans la présence des microorganismes. Le fait d'observer de telles modifications dans des organes restés impurs se trouvera être une preuve d'ordre cytologique de l'existence de la fermentation propre.

(*A suivre*).

Digitized by Google

RECHERCHES

SUR QUELQUES RÉACTIONS DES MEMBRANES LIGNIFIÉES

par M. L. GÉNEAU de LAMARLIÈRE *(Fin)*.

Chapitre II

DOUBLE COLORATION AU VERT D'IODE ET AU CARMIN ALUNÉ

On sait que le procédé de la double coloration appliqué aux membranes des tissus végétaux facilite beaucoup l'étude de ces dernières en les rendant plus visibles, et surtout en fournissant des renseignements approximatifs sur leur composition chimique. Diverses techniques ont été préconisées pour obtenir ces colorations multiples dans une même coupe, soit à l'aide d'un seul réactif, soit à l'aide de deux réactifs colorants combinés. Dans cette dernière catégorie se place la double coloration que l'on obtient par l'action successive du vert d'iode et du carmin aluné de Grenacher. Par ce procédé aujourd'hui devenu classique et du plus grand secours pour l'étude de l'anatomie végétale, on colore en rouge ou en rose les parois des tissus qui ne contiennent pas de substances imprégnantes secondaires, et en vert les parois des cellules qui ont subi des modifications importantes comme celles que nous qualifions actuellement de lignification et de cutinisation. Ainsi les vaisseaux, le parenchyme ligneux et les sclérites, dans la plupart des cas, le liège, les couches cuticulaires, la cuticule parfois, se colorent en vert et se distinguent par cette particularité des parenchymes ordinaires. Telles sont les idées généralement admises aujourd'hui sur l'action de cette double coloration. Mais il y aura certains points importants à modifier dans ces vues et qui ressortiront des recherches suivantes.

J'examinerai en même temps l'action de certains autres réactifs tels que la fuchsine ammoniacale, l'iode en solution dans l'eau ou l'iodure de potassium, etc., qui paraissent se fixer sur les mêmes membranes que le vert d'iode.

Digitized by Google

Le fait que les parois lignifiées se colorent par les réactifs précédents peut-il être suffisant pour permettre de conclure que c'est à la lignine à proprement parler que ces réactifs s'adressent. C'est le raisonnement que paraissent avoir fait les histologistes. Mais une étude critique m'a conduit à une conclusion tout autre.

D'abord il est une remarque à faire c'est que si les réactifs en question caractérisent la lignine, ils s'adressent aussi à d'autres composés, car des parois avérément non lignifiées se colorent aussi bien que celles du bois, par exemple, le liège, la cuticule, dont les substances imprégnantes ne paraissent avoir rien de commun avec la lignine. Bien plus ces mêmes matières colorantes se fixent avec beaucoup d'intensité sur le protoplasme et le noyau. *A priori*, il paraît plus simple d'admettre que le vert d'iode se fixe sur une série de corps qui ont entre eux plus d'analogie que la lignine, la subérine, la cutine, le protoplasme et le noyau. C'est à la détermination de ces composés que seront consacrées les recherches suivantes.

Les substances fondamentales de la membrane (cellulose, composés pectiques, callose) ne fixent d'une manière appréciable aucun des réactifs en question. C'est donc uniquement des substances imprégnantes qu'il faudra s'occuper.

I. Lignine

En premier lieu se présente la lignine ou vasculose de Frémy. Il est facile, comme on vient de le voir, de débarrasser de cette substance incrustante les membranes lignifiées, en la transformant par les corps oxydants en acides résineux qui deviennent solubles dans les alcalis. On peut alors rechercher si les membranes ainsi délignifiées sont encore susceptibles d'absorber les colorants en question.

A.

Je me suis servi d'abord d'une solution *d'hypochlorite de potassium* sans soude caustique, que l'on trouve dans le commerce sous le nom d'extrait de Javel.

Voici quelques renseignements sur les résultats obtenus et dont l'exposition détaillée peut avoir son intérêt.

Noyer (*Juglans regia*). — Les coupes sont pratiquées dans des rameaux d'un à deux ans, de manière à avoir toute la série des

Digitized by Google

tissus bien développés. Sur des coupes fraîches, ou traitées pendant un temps court par l'hypochlorite, un quart d'heure au plus, pour obtenir des préparations plus transparentes, les réactifs de la lignine (phloroglucine acide ou sulfate d'aniline) se fixent de la façon suivante. Le liège reste incolore, ainsi que le phelloderme et le parenchyme de l'écorce primaire. Quelques fibres corticales réparties çà et là sont nettement colorées. Le péricycle, formé d'arcs fibreux entremêlés de quelques sclérites courtes, est intéressant à étudier. Les sclérites courtes sont en effet fortement et uniformément lignifiées ; elles présentent des parois toujours colorées d'une façon plus intense que les fibres ; elles sont même presque opaques. Dans l'épaisseur des parois des fibres on reconnaît aisément trois assises concentriques de moins en moins colorées de l'extérieur à l'intérieur : 1° la lame intercellulaire, colorée toujours d'une façon très intense ; 2° une lame moyenne, d'épaisseur variable, moins colorée, quoique assez nettement encore ; 3° une lame interne ordinairement plus épaisse et de couleur très pâle, paraissant même quelquefois incolore.

Le liber mou ne possède pas de lignine et reste incolore ; mais le liber dur, formé de paquets de fibres analogues à celles du péricycle, présente dans ses éléments la même disposition en trois couches de moins en moins colorées de l'extérieur à l'intérieur. Toutefois si on compare la teinte de ces paquets fibreux pris dans leur ensemble à celle du péricycle, on constate toujours une intensité moindre, et, d'une façon générale, la lignification du liber dur est moins avancée que celle du péricycle.

Dans le bois secondaire tout est lignifié, mais il y a ici encore des nuances. Les vaisseaux isolés ou disposés par groupes, ainsi que les cellules qui les avoisinent immédiatement sont plus lignifiés que les fibres, et dans ces dernières, les lames intercellulaires plus colorées forment un réseau qui tranche sur le fond plus pâle de la coupe.

Dans le bois primaire, les vaisseaux sont aussi plus colorés que le parenchyme qui les accompagne. La zone périmédullaire est bien lignifiée tandis que la moelle proprement dite ne l'est pas.

Après un séjour d'une demi-heure dans l'hypochlorite, les coupes traitées par les réactifs de la lignine, montrent déjà des teintes moins vives et pour peu qu'elles soient minces, la diminu-

Digitized by Google

tion de la teinte est déjà fort marquée. Après une heure de séjour dans l'hypochlorite, les coupes même épaisses, ne sont plus colorées qu'en rose pâle par la phloroglucine.

Si le séjour se prolonge deux heures, on n'obtient plus qu'une coloration rose très faible virant au jaunâtre. Les sclérites courtes du péricycle et les vaisseaux, surtout ceux du bois primaire, qui, sur le frais, présentaient les teintes les plus intenses, conservent encore le pouvoir de se colorer en rose franc, mais pâle, par la phloroglucine. Enfin après quatre heures de traitement par l'hypochlorite, seules les coupes fort épaisses montrent, lorsqu'elles sont examinées à l'œil nu et dans l'acide chlorhydrique des traces de coloration ; mais montées dans l'eau, et examinées par transparence au microscope, elles paraissent absolument incolores. On peut considérer sans grande erreur, qu'à ce moment ces coupes ont perdu presque entièrement leur lignine.

La délignification suit une marche absolument parallèle, si on l'observe à l'aide du sulfate d'aniline.

Des coupes faites en même temps que les précédentes, et soumises au même traitement par l'hypochlorite ont été ensuite colorées par le carmin aluné et le vert d'iode.

Dans les coupes fraîches ou traitées un quart d'heure environ par l'hypochlorite, les membranes de la portion externe du liège absorbent un peu de vert, le reste du liège est rose, ainsi que le phelloderme, le parenchyme cortical primaire, le liber mou et la moelle. Les fibres corticales, péricycliques et libériennes sont colorées en vert. Mais dans le péricycle les sclérites courtes semblent absorber le colorant avec plus de difficulté, elles restent pâles ou même ne se colorent pas du tout, ce qui implique déjà une différence très nette entre le vert d'iode et les colorants de la lignine. D'ailleurs dans les fibres péricycliques et libériennes on ne reconnaît plus les trois zones si nettement délimitées par la phloroglucine, tout est coloré uniformément.

Dans le bois primaire et secondaire, ainsi que dans la zone périmédullaire la teinte verte est aussi à peu près uniforme et le réseau intercellulaire se laisse à peine soupçonner.

Mais ce n'est pas seulement par le manque de concordance avec les colorations de la phloroglucine sur les coupes fraîches que le vert d'iode se distingue des réactifs de la lignine, c'est surtout par

Digitized by Google

sa manière d'agir après le traitement plus ou moins prolongé par l'hypochlorite.

En effet, ce colorant se fixe fortement encore sur des coupes soumises pendant quatre heures à l'hypochlorite, alors que sur des coupes identiques la phloroglucine et le sulfate d'aniline ne donnent plus de réaction appréciable.

Examinons quelques points de détail. Après une demi-heure d'exposition des coupes à l'hypochlorite, le vert se fixe sur les mêmes tissus que sur le frais, mais il subit une modification intéressante. D'abord les sclérites courtes du péricycle se colorent beaucoup mieux, comme si l'hypochlorite leur avait enlevé une substance qui empêchait la fixation du colorant. Il en est de même du liège. Il y a là un sujet d'études sur lequel je me propose de revenir plus tard. En second lieu les fibres du liber (non celles du péricycle) virent au bleu net et une portion des fibres du bois secondaire a également une tendance à virer au bleu. Plus les coupes ont séjourné dans l'hypochlorite, plus le bois présente ce changement de coloration. Je ne voudrais pas affirmer que ce virage soit constant avec les verts d'iode de toutes les fabrications. Avec le vert dont je me sers actuellement, je l'obtiens avec facilité, mais je me suis servi autretois de vert d'iode qui ne présentait pas cette particularité.

En somme donc le vert d'iode agit tout à fait différemment de la phloroglucine bien que sur certains points l'action des deux réactifs paraisse être parallèle.

La fuchsine ammoniacale et la teinture d'iode étendue d'eau, ont une action exactement parallèle à celle du vert d'iode, moins le virage cité plus haut. Ces deux réactifs paraissent aussi se fixer un peu mieux sur certaines parois du liège, mais en ce qui concerne les sclérites courtes ils se comportent exactement de la même façon et s'éloignent autant que possible de la phloroglucine.

Murier a papier (*Broussonnetia papyrifera*). Cet arbre a présenté les mêmes particularités que le Noyer, mais son étude est intéressante à cause de la présence de fibres corticales, péricycliques et libériennes peu ou pas lignifiées à l'état naturel. Dans les coupes minces ou de moyenne épaisseur les fibres corticales restent absolument incolores en présence de la phloroglucine ; ce n'est

Digitized by Google

que dans les coupes fort épaisses qu'on les voit prendre une teinte rose pâle. Dans les fibres péricycliques la lignification des lames intercellulaires est nette, mais la lame moyenne est peu lignifiée et la lame interne ne l'est pas du tout dans la plupart des cas. Il en est à peu près de même dans les fibres libériennes, qui prennent des teintes encore plus pâles que les fibres péricycliques, et qui même manquent quelquefois totalement de lignine.

Un séjour d'un quart-d'heure dans l'hypochlorite, d'une demi-heure au plus, suffit à faire disparaître toute trace de lignification dans ces fibres.

Le vert d'iode et la fuchsine ammoniacale donnent aussi de faibles colorations à ces éléments : mais ces colorations persistent plus longtemps, et un séjour de quatre heures dans l'hypochlorite n'arrive pas à les empêcher complètement.

Genet d'Espagne (*Spartium junceum* L.). — Les recherches ont porté sur des tiges d'âge moyen où le périderme avait commencé à fonctionner, mais où on trouvait encore des débris très reconnaissables d'épiderme à cuticule épaisse.

La lignification porte sur les tissus suivants : dans l'écorce quelques paquets de fibres à parois épaisses sont faiblement lignifiées, ou même paraissent ne pas l'être lorsque la coupe est suffisamment mince. Les fibres péricycliques et libériennes le sont davantage, et leur lame intercellulaire prend une coloration foncée. Dans le bois secondaire, les vaisseaux, accompagnés de parenchyme ligneux, sont disposés par ilots, qui forment des zébrures élégantes mais qui sont fortement lignifiées. Avec la phloroglucine on obtient des teintes rouge noirâtre. Les fibres au contraire sont plus pâles, quoiqu'encore bien foncées, et le réseau intercellulaire apparaît nettement sur le fond un peu moins foncé. Le bois primaire et la zone périmédullaire sont également bien lignifiés.

Un séjour d'une heure dans l'hypochlorite délignifie entièrement les fibres pâles de l'écorce et presque complètement celles du péricycle et du liber. Dans ces dernières, seules les lames intercellulaires sont encore nettement colorées par la phloroglucine. Dans le bois secondaire les fibres montrent aussi déjà une délignification avancée. L'action de l'hypochlorite se faisant sentir pendant trois

Digitized by Google

heures, la délignification est presque achevée, et après dix heures on ne trouve plus de traces de lignine, même dans les tissus les plus lignifiés.

Quelle est la réaction du vert d'iode sur les tissus du *S. junceum* ? Sur le frais, la cuticule et le liège (qui ne présentent pas de traces de lignine) se colorent en jaune verdâtre, passant plus ou moins franchement au vert. C'est un nouvel exemple du défaut de parallélisme entre le vert d'iode et la phloroglucine. Les fibres corticales peu lignifiées réagissent aussi très peu avec le vert d'iode. Les fibres libériennes et péricycliques se conduisent avec ce dernier réactif comme avec la phloroglucine ; il en est de même des tissus du bois secondaire, du bois primaire et de la zone périmédullaire.

Mais alors que les coupes soumises pendant trois heures à l'hypochlorite sont presque entièrement délignifiées, on constate qu'elles montrent encore une forte affinité pour le vert d'iode. Toutefois on observe ici, comme chez le Noyer, un virage au bleu, bien marqué au moins pour les fibres du péricycle et du liber ; celles du bois sont un peu plus réfractaires.

En prolongeant l'action de l'hypochlorite jusqu'à dix heures environ, on constate que les tissus fixant le vert ont viré au bleu. Si on prolonge encore le traitement jusque vers 24 heures, on arrive à ne plus obtenir de fixation du vert d'iode sur certaines parois qui admettent bien alors le carmin aluné, et qui se montrent, dans ce cas, comme dépourvues de toute substance imprégnante.

L'emploi de la fuchsine ammoniacale donne lieu aux observations suivantes. Sur le frais, dans la cuticule et le liège, on n'obtient pas de coloration, alors que le vert d'iode pénétrait ces tissus, quoique d'une façon encore imparfaite, puisqu'on obtenait seulement une coloration jaune-verdâtre. Mais, à mesure que l'on traite les coupes par l'hypochlorite, on obtient sur ces deux tissus des colorations de plus en plus intenses avec la fuchsine ammoniacale. Remarquons que ces parois ne sont pas lignifiées et qu'ici encore il y a défaut de concordance entre les réactifs de la lignine et la fuchsine ammoniacale.

En ce qui concerne les tissus qui présentent les réactions de la lignine, on observe, sur le frais, des réactions colorantes parallèles

Digitized by Google

à celle du vert d'iode. Mais lorsque l'on a fait disparaître la lignine par un traitement prolongé à l'hypochlorite (3 heures), on constate encore des colorations très nettes avec la fuchsine, comme avec le vert d'iode. Toutefois, après dix heures et plus de traitement à l'hypochlorite, les teintes sont de moins en moins nettes.

La teinture d'iode étendue d'eau colore directement, sur le frais, la cuticule et le liège, ainsi que tous les tissus présentant les réactions de la lignine. On obtient encore une diminution progressive de la réaction après un séjour prolongé dans l'hypochlorite (10 à 24 heures) exactement comme avec la fuchsine.

Racine d'iris (*Iris florentina* L.). — Les coupes fraîches de racines d'*Iris* montrent une assise subéreuse légèrement lignifiée. L'endoderme, dont les parois sont fortement épaissies en fer à cheval, ou quelquefois sur tout le pourtour, présente des lames intercellulaires fortement lignifiées, tandis que les lames d'épaississement le sont à peine et pour celles-ci la lignification va en diminuant depuis la courbure du fer à cheval jusqu'à l'extrémité des branches, c'est-à-dire de l'intérieur vers l'extérieur de l'endoderme. Les vaisseaux du bois et les rayons médullaires sont bien lignifiés ; la moelle dont les parois sont fortement épaissies, est également lignifiée, et plus encore dans les lames intercellulaires que dans l'épaississement.

Un séjour de trois heures dans l'hypochlorite délignifie entièrement les coupes.

Avec le vert d'iode toutes les portions lignifiées (liège, endoderme, etc.) sont colorées en vert foncé. L'endoderme lui-même peu lignifié se colore aussi bien que le reste. Il faut un séjour d'une vingtaine d'heures dans l'hypochlorite pour obtenir une disparition de la réaction, tandis que trois heures suffisent pour faire disparaître la lignification. Après 30 à 40 heures, l'assise subéreuse se colore encore assez nettement en vert, virant au bleu, tandis que tout le reste de la coupe se teinte en rouge par le carmin aluné.

Avec la fuchsine ammoniacale on obtient des réactions parallèles à celles du vert d'iode, cessant un peu plus tôt toutefois, entre 15 et 20 heures de traitement par l'hypochlorite. Même observation est à faire pour la teinture d'iode.

Digitized by Google

Pétiole d'*Aspidium aculeatum*. — L'épiderme est lignifié ainsi que la couche sclérense sous-jacente composée de 12 à 15 rangées de cellules sclérifiées. Dans l'endoderme il n'est pas possible de savoir si la lignification a lieu, à cause du dépôt de matière noire fréquent à ce niveau chez les Fougères. Les vaisseaux sont nettement lignifiés. La lignification persiste longtemps en s'affaiblissant sous l'action de l'hypochlorite. Après 28 heures, les coupes présentent encore des traces de coloration rose pâle virant l'orangé. Mais cette coloration n'est visible qu'à l'œil nu et dans l'acide chlorhydrique : les coupes montées à l'eau et examinées par transparence sont incolores. Après 40 heures de séjour dans l'hypochlorite aucune trace de coloration n'est plus visible de quelque façon que ce soit.

Le vert d'iode sur le frais agit parallèlement aux réactifs de la lignine. Mais sa coloration persiste (en virant au bleu toutefois), après la disparition totale de la lignine, c'est-à-dire après environ 40 heures de traitement par l'hypochlorite. Un séjour de quelques heures dans ce réactif détruit la substance noire de l'endoderme, et le vert d'iode teinte alors les cadres subérifiés, tandis que toute trace de lignine fait défaut sur ce point.

La fuchsine ammoniacale, au début, donne lieu aux mêmes observations que le vert d'iode. Mais la réaction n'a plus lieu que faiblement après trente heures de séjour dans l'hypochlorite. Les mêmes observations peuvent se faire à l'aide de la teinture d'iode étendue d'eau.

B.

Si au lieu d'*hypochlorite pur* on emploie une solution *additionnée de potasse caustique* (5 à 8 °/₀), on obtient des résultats dans le même sens. Voici quelques exemples pris au hasard.

Racine de Pivoine. — La phloroglucine montre comme étant lignifiées les lames intercellulaires du liège, les sclérites courtes isolées ou groupées çà et là dans l'écorce, les vaisseaux du bois secondaire et quelques fibres qui les accompagnent, enfin les vaisseaux du bois primaire. Après seize heures de séjour dans l'hypochlorite, la délignification du liège est complète, et les autres parois lignifiées ne présentent plus qu'une teinte orangée pâle, quelquefois à peine visible. Après ce laps de temps d'autres coupes traitées de

Digitized by Google

la même manière mais colorées par le vert d'iode et le carmin aluné ne montrent nullement de diminution dans leur pouvoir d'absorption pour le vert ; toutefois on observe une certaine tendance de ce colorant à virer au bleu.

La fuchsine ammoniacale et la teinture d'iode donnent lieu aux mêmes observations.

Pareira brava (*Chondodendron tomentosum*). — Abstraction faite de la structure anatomique toute particulière de cette liane du Brésil, les vaisseaux du bois se colorent par la phloroglucine en rose pâle, les fibres en rouge presque noirâtre, les rayons médullaires en gris rosé, tandis que les sclérites courtes, jaunâtres ou même jaune d'or, conservent leur couleur naturelle. Après quatorze heures de traitement par l'hypochlorite on constate une délignification très avancée. Mais à ce moment le vert d'iode se fixe mieux que jamais sur toutes les parois des vaisseaux, des fibres et des sclérites courtes. Ces dernières, sur le frais, se colorent difficilement par le vert d'iode ; mais plus on traite par l'hypochlorite, plus on obtient de fixation du colorant. Il se passe ici un phénomène analogue à celui que j'ai cité plus haut pour le Noyer.

On peut faire les mêmes observations pour la fuchsine ammoniacale et pour la teinture d'iode.

C

L'acide azotique employé comme oxydant montre une action aussi énergique que l'hypochlorite additionné de potasse. On constate une disparition aussi rapide de la réaction de la phloroglucine, et par conséquent une délignification aussi active. Mais les coupes délignifiées se colorent encore fort bien par le procédé de la double coloration. Le vert d'iode se fixe aussi bien ou presque aussi bien que sur les matériaux frais.

Il en est de même de la fuchsine ammoniacale et de la teinture d'iode.

De même qu'avec l'acide azotique la délignification a lieu aussi rapidement, de même la disparition des substances justiciables du vert d'iode, de la fuchsine ammoniacale et de la teinture d'iode a lieu aussi vite. Et, en général, après un séjour de 24 à 48 heures dans l'acide on constate, pour peu que la coupe ne soit pas trop épaisse, que le carmin aluné tend à chasser le vert d'iode

Digitized by Google

des membranes, ce qui indique pour celles-ci une plus grande pureté (Noyer, *Broussonnetia papyrifera*).

D

L'*acide chromique* m'a donné les mêmes résultats que l'acide azotique, la délignification est rapide, mais le vert d'iode et la fuchsine ammoniacale colorent encore pendant quelque temps les coupes délignifiées (Noyer, Vigne). La solution saturée de *bichromate de potassium* agit dans le même sens que l'acide chromique, mais avec beaucoup moins de rapidité (Vigne).

E.

Le *liquide de Hofmeister* délignifie très rapidement les coupes ; après une demi-heure de traitement la Vigne ne laisse plus voir de traces de lignine par la phloroglucine ; mais elle présente alors avec beaucoup d'intensité la réaction de Mäule. Ces mêmes coupes présentent aussi bien que sur le frais la double coloration par le vert d'iode et le carmin aluné. Il est vrai qu'on pourrait attribuer à la lignine oxydée la propriété de fixer le vert d'iode. Mais cette supposition serait erronée ; car si après avoir oxydé entièrement la lignine par le réactif de Hofmeister on trempe les coupes dans une solution de potasse, on obtient la réaction de Mäule, et les coupes se colorent en rouge intense, puis la couleur disparaît peu à peu parce que l'acide résineux se dissout dans l'alcali. Ces coupes, ainsi privées de lignine et d'acide résineux, présentent encore la double coloration, moins bien il est vrai que sur le frais, mais encore très nettement.

D'autre part, si on traite par la fuchsine ammoniacale les coupes de Vigne oxydées par le réactif de Hofmeister, on obtient instantanément une coloration rouge, qui est la réaction de Mäule, puis cette coloration disparaît peu à peu par suite de la dissolution de l'acide résineux dans l'ammoniaque. Lorsque les coupes sont ainsi décolorées entièrement, on les transporte dans l'eau pure ; elles rougissent alors de nouveau, par suite de la disparition de l'ammoniaque ; ici, c'est la réaction de la fuchsine ammoniacale, tout-à-fait indépendante comme on le voit de celle de Mäule. On voit donc que la fuchsine ammoniacale ne s'adresse ni à la lignine intacte, ni à la lignine oxydée, mais à d'autres composés.

Digitized by Google

F.

Si, au lieu d'oxyder les coupes, on les soumet à une action réductrice, on obtient des résultats identiques. Des coupes de Vigne, traitées pendant 24 et 48 heures par le procédé de Czapek (solution de HCl attaquant l'étain avec formation de chlorure stanneux réducteur), ne donnent plus de réaction avec la phloroglucine ; elles sont donc délignifiées ; mais elles se colorent encore par la double coloration et par la fuchsine ammoniacale.

Il paraît donc bien avéré que les tissus qui contenaient primitivement de la lignine et qui ont été dépouillés de cette substance par divers procédés (oxydation et réduction) possèdent encore la faculté de fixer le vert d'iode, la fuchsine ammoniacale et l'iode en solution. Ce n'est donc pas à la lignine que ces colorants s'adressent.

II. — Cutine et subérine

Le vert d'iode, la fuchsine ammoniacale et la teinture d'iode, se fixant sur les parois lignifiées comme sur les parois cutinisées et subérifiées, on pourrait supposer que la cutine et la subérine sont pour quelque chose dans la fixation de ces réactifs sur les membranes, d'autant plus que si l'on admet les conclusions de Frémy, il faudrait reconnaître qu'il y a dans le bois une faible proportion de cette substance que ce chimiste a appelée la *cutose*. Ce fait, d'ailleurs, paraît confirmé par la manière d'agir du Soudan III, réactif qui colore en rouge intense la cuticule et le liège, laisse incolore le parenchyme pur et colore toujours en rose très pâle les tissus lignifiés.

Toutefois, il paraît peu vraisemblable que la cutine soit la substance colorée par le vert d'iode. Ce dernier réactif, en effet, se fixe avec intensité sur le bois qui ne contient que peu de cutine, et éprouve souvent beaucoup de difficultés à colorer la cuticule pure ou presque pure. Il en est de même pour la subérine.

III. — Lignol et Xylane

La xylane, qui, d'après les recherches de M. G. Bertrand, serait très peu abondante dans le bois des Gymnospermes, ne peut servir de substratum au vert d'iode et aux autres réactifs du même ordre. C'est qu'en effet chez les plantes de ce groupe on observe

Digitized by Google

une fixation tout aussi intense du vert d'iode que chez les Angiospermes. Le même raisonnement s'applique à la mannocellulose de M. Bertrand, qui, selon cet auteur, serait propre aux Gymnospermes, à l'exclusion des Gnétacées.

D'ailleurs en traitant les coupes par la lessive de soude à 2 %, on élimine la xylane et le lignol. Ces coupes se colorent cependant de la même façon que sur le frais par les réactifs en question (vert d'iode, fuchsine ammoniacale, iode). Ces essais ont porté sur le Noyer, la Vigne, le *Quassia amara*, le *Pteris aquilina*, le bois de Pin, etc.

IV. Composés azotés

Il paraît plus vraisemblable d'attribuer à certains composés azotés qui se trouvent dans les membranes, la fixation du vert d'iode, de la fuchsine ammoniacale et de la teinture d'iode. Remarquons d'abord que ces colorants se fixent avec beaucoup d'intensité sur le noyau et le protoplasme, substances riches en matières azotées.

Dans ce cas d'ailleurs, ces réactifs se conduisent exactement comme le bleu de méthylène, le brun Bismarck, et un certain nombre d'autres. On peut même dans le procédé de la double coloration remplacer, comme je l'ai fait, le vert d'iode par le bleu de méthylène, sans aucun inconvénient. Or, ce dernier colorant, ainsi que le brun Bismark et plusieurs autres se fixent sur les membranes grâce à la présence des substances azotées ; l'alcool, la glycérine ne décolorent pas les membranes ainsi colorées. Au contraire, si la membrane est vierge de composés azotés, l'alcool enlève les colorants fixés d'abord. C'est ce qui se passe avec le vert d'iode et l'eau iodée dans le cas des coupes oxydées avec les différents corps employées précédemment, si on a eu soin de conduire la réaction de façon à se débarrasser de la lignine, seulement sans aller jusqu'à enlever complètement à la membrane les substances azotées qu'elle contient. En dissolvant ces dernières on obtient encore la fixation des réactifs ci-dessus, mais cette fixation est faible, car un lavage de quelques minutes à l'alcool suffit à débarrasser les membranes de ces colorants.

Digitized by Google

CONCLUSIONS.

Des faits précédemment exposés, on peut tirer les conclusions suivantes :

1° L'oxydation des membranes lignifiées par divers réactifs amène la production de corps nouveaux (acides résineux de Frémy) solubles dans les alcalis et certains sels alcalins.

2° Les corps oxydés ainsi formés ne sont sans doute pas tous de composition absolument identique, et celle-ci varie selon le réactif oxydant employé.

3° La membrane lignifiée, dans toutes les plantes vasculaires, ne s'oxyde pas toujours avec la même facilité. Celle des Gymnospermes et des Cryptogames vasculaires paraît donner moins facilement la réaction colorée dite *réaction de Mäule.*

4° La réaction de Mäule, en rouge, s'obtient en traitant les membranes lignifiées par l'acide chromique, le permanganate de potassium ou le réactif de Hofmeister, puis en faisant subir successivement à la substance oxydée, l'action d'un acide minéral et d'un alcali ou d'un sel alcalin.

5° Il est vraisemblable que c'est une réaction analogue que l'on obtient en jaune en oxydant la membrane par l'acide azotique ou l'hypochlorite de potassium.

6° Dans la membrane lignifiée c'est la lignine qui s'oxyde en donnant naissance aux acides résineux.

7° Certains réactifs colorants (vert d'iode, fuchsine ammoniacale, iode en solution), qui colorent avec intensité la membrane lignifiée, ne doivent pas leur fixation à la présence de la lignine, car en supprimant cette dernière substance, on obtient encore la fixation de ces réactifs.

8° Il paraît vraisemblable que la réaction colorée obtenue avec ces corps est due à la présence des composés azotés qui accompagnent la lignine dans les membranes lignifiées (1).

(1) Laboratoire d'Histoire naturelle de l'École de Médecine et de Pharmacie de Reims.

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX

DE

PALÉONTOLOGIE VÉGÉTALE

PUBLIÉS DANS LE COURS DES ANNÉES 1897-1900

par M. R. ZEILLER (Suite).

La flore de l'Oolithe inférieure du Yorkshire, en Angleterre, a fait l'objet, de la part de M. Seward (1), d'une étude monographique approfondie, dans laquelle il ne signale que deux espèces nouvelles, l'une du genre *Dioonites*, l'autre rapportée au genre *Nageiopsis*, non encore observé à ce niveau, et qu'il présume pouvoir être allié plutôt aux Araucariées qu'aux Podocarpées ; mais les espèces déjà connues ont donné lieu de sa part à de très nombreuses observations nouvelles, portant notamment sur des échantillons fertiles de Fougères appartenant aux genres *Matonidium*, *Laccopteris*, *Dictyophyllum*, *Coniopteris*, ce dernier à frondes fertiles presque sans limbe, reproduisant le type des *Thyrsopteris*, mais que l'auteur s'abstient de rapporter à ce genre vivant, à raison des ressemblances presque aussi grandes qu'elles présentent avec les pennes fertiles de certaines espèces de *Dicksonia*. Il confirme les observations de Schenk et de M. Raciborski touchant l'attribution aux Osmondées du *Pecopteris Williamsonis*, pour lequel il préfère toutefois l'appellation générique de *Todites* à l'identification formelle avec le genre vivant *Todea*. En ce qui regarde les Cycadinées, il établit que le *Zamites gigas* et le *Pterophyllum pecten* ont porté l'un et l'autre, conformément à ce qu'avait dit Williamson pour le premier d'entre eux, des fructifications du type *Williamsonia*, et il leur applique à tous deux ce dernier nom générique; il fait ressortir en outre la parfaite concordance de forme et de nervation des folioles du *Will. pecten* avec celles du genre *Ptilophyllum*, considéré jusqu'ici comme propre à la flore indienne des *Upper Gondwanas*, si bien même qu'il se demande s'il ne faudrait pas réunir spécifiquement à l'espèce anglaise les deux principales espèces de ce genre, *Ptil. acutifolium* et *Ptil. cutchense*.

(1) A.-C. Seward : Notes on some Jurassic plants in the Manchester Museum (*Mem. and Proc. Manchester lit. and phil. Soc.*, XLIV, Mem. n° 8, 28 p., 4 pl.; 1900); Catalogue of the mesozoic plants in the Department of Geology, British Museum (Natural history). The Jurassic Flora. I. — The Yorkshire Coast. Londres. In-8°, XII 341 p., 53 fig., 21 pl. 1900.

Digitized by Google

Enfin, il émet quelques doutes sur la légitimité du classement habituel des *Podozamites*, dans lesquels il serait disposé à voir des rameaux de Conifères plus ou moins analogues aux *Dammara*, plutôt que des frondes de Cycadinées.

Il faut sans doute rapporter à un niveau à peu près semblable à celui des couches à plantes du Yorkshire, peut-être cependant un peu plus élevé, le gisement à végétaux fossiles de Kamenka, dans le Gouvernement de Kharkow, en Russie, où M. Grigoriew a observé (1) une riche flore, composée pour moitié de Fougères, dont un bon nombre fructifiées, pour près d'un quart de Cycadinées, et pour près d'un cinquième de Conifères, mais sur laquelle il n'a donné que de très succincts renseignements.

La flore jurassique de la France n'a donné lieu qu'à une courte note de M. Maire (2), relative à une graine de Cycadinée trouvée dans l'Oxfordien du Doubs, et se rapprochant, par ses côtes, du *Cycadeospermum Schlumbergeri*; l'auteur propose, à cette occasion, de diviser ce genre *Cycadeospermum* en deux sections, l'une, *Leiocycadeospermum*, comprenant les graines lisses ou à surface à peine ondulée, l'autre, *Pleurocycadeospermum*, comprenant les graines munies de côtes séparées par des sillons; il présume que ces côtes doivent correspondre à des bandes sclérenchymateuses, demeurées saillantes par suite de l'affaissement et de la contraction des tissus charnus adjacents.

MM. Rordam et Bartholin (3) ont signalé la présence, dans les formations glaciaires des environs de Copenhague, de blocs de grès renfermant diverses espèces de plantes jurassiques, entr'autres *Tæniopteris vittata*, *Podozamites lanceolatus*, *Ginkgo Huttoni*, mais dont il ne paraît guère possible de déterminer la provenance, ni même l'âge exact.

M. Nathorst a fait une étude détaillée (4) des plantes fossiles recueillies par lui au Spitzberg en 1882, principalement au cap Staratschin et à Advent Bay, les gisements du cap Boheman n'ayant donné lieu qu'à des récoltes moins importantes; ces derniers, rangés aujourd'hui par lui, à la suite de son exploration de 1898, au sommet ou même un peu au-dessus de l'Oxfordien, ne lui ont guère fourni que des espèces

(1) N. Grigoriew : Note sur la flore jurassique du village Kamenka, gouvernement de Kharkow (*Trav. Soc. imp. nat. Saint-Pétersbourg*, XXX, p. 165-169 (en russe) ; 1900).

(2) R. Maire : Note sur un nouveau *Cycadeospermum* de l'Oxfordien (*Bull. herb. Boissier*, V, p. 388-392, 3 fig.; 1897).

(3) K. Rordam og C. Bartholin : Om Forekomsten af Juraforsteninger i lose Blokke i Moraeneler ved Kobenhavn (*Danmarks geol. Undersogelse*, II. R., Nr 7, 17 p., 1 pl.; 1897).

(4) A.-G. Nathorst : Zur fossilen Flora der Polarländer. 1er Thl. 2e Lief. Zur mesozoischen Flora Spitzbergens (*K. Sv. Vetensk Akad. Handl.*, XXX, N° 1, 77 p., 6 pl.; 1897); Nachträgliche Bemerkungen über die mesozoische Flora Spitzbergens (*Öfvers. K. Vetensk. Akad. Förhandl.*, 1897, p. 383-387).

Digitized by Google

déjà connues. Dans ceux du cap Staratschin et d'Advent Bay, il a observé un certain nombre de formes wealdiennes, notamment l'*Elatides curvifolia* représenté par des rameaux feuillés, dont plusieurs portent à leur extrémité des cônes très analogues d'aspect à certains cônes d'Abiétinées, de *Picea* notamment ; ces gisements renferment en outre un grand nombre de feuilles détachées ayant tous les caractères d'aiguilles de Pins, et décrites comme *Pityophyllum*, ainsi que des cônes et des graines ailées, *Pityostrobus* et *Pityospermum*, rappelant les organes homologues des *Pinus*. M. Nathorst a reconnu en outre, particulièrement à Advent Bay, plusieurs espèces nouvelles, appartenant aux genres *Sphenopteris*, *Tæniopteris*, *Lycopodites*, *Baiera*, *Feildenia* et *Schizolepis*, cette dernière espèce, *Schiz. retroflexa*, n'étant d'ailleurs rapportée à ce genre qu'avec doute et suggérant à l'auteur la possibilité d'un rapprochement avec les *Tmesipteris*. Il crée en outre un genre nouveau, sous le nom de *Drepanolepis*, pour des épis fructificateurs à bractées assez espacées, à limbe étroit, légèrement falciforme, rétréci vers la base, et portant un corps arrondi, graine ou sporange, sur sa face ventrale ; la position systématique de ce genre, dont il a été rencontré trois espèces, une dans chacun des gisements explorés, demeure tout à fait indécise. Enfin l'auteur a pu établir que les empreintes du cap Staratschin attribuées par Heer aux Monocotylédones n'étaient que des écailles ou des rameaux de Conifères. Cette flore du cap Staratschin et d'Advent Bay lui paraît, en fin de compte, à raison de ses affinités avec la flore wealdienne, devoir correspondre à l'extrême sommet du Jurassique.

Il faut probablement rapporter à un niveau assez peu différent les couches à plantes du cap Flora, sur la Terre de François-Joseph, explorées par Nansen dans son expédition du Fram, ainsi que par l'expédition Jackson-Harmsworth. Les empreintes qui y ont été recueillies et qui ont été étudiées, d'une part par M. Nathorst (1), d'autre part par MM. Newton et Teall (2), comprennent des lambeaux de frondes de Fougères rappelant diverses formes jurassiques, une nouvelle espèce de *Ginkgo* à petites feuilles, *G. polaris* Nath., des feuilles de *Czekanowskia*, de *Phœnicopsis*, de *Feildenia*, et d'assez nombreuses aiguilles et graines ailées présentant les caractères de celles des Pins, accompagnées de débris de cônes, et comprenant, entr'autres, une forme nouvelle, *Pityospermum Nanseni* Nath. M. Nathorst regarde

(1) A.-G. Nathorst : Note sur les plantes fossiles du Cap Flora (*in* Nansen, Vers le Pôle, trad. de Ch. Rabot, p. 419-420; 1897); Fossil plants from Franz Josef Land (*The Norvegian north polar Expedition* 1893-1896. Scientific results, III, 26 p., 2 pl.; 1899).

(2) E.-T. Newton and J.-J.-H. Teall : Notes on a collection of rocks and fossils from Franz Josef Land (*Quart. Journ. Geol. Soc.*, LIII, p. 477-519, pl. XXXVII-XLI; 1897); Additional notes on rocks and fossils from Franz Josef Land (*ibid.*; LIV, p. 646-652; 1898).

Digitized by Google

cette flore comme voisine de la fin du Jurassique, probablement un peu plus ancienne que celle du cap Staratschin et d'Advent Bay. L'expédition du Windward a rapporté en outre quelques plantes d'une autre localité de la Terre de François-Joseph, au voisinage du cap Stephen; les empreintes, malheureusement fragmentaires, qui en proviennent, décrites et figurées par MM. Newton et Teall, comprennent des Cycadinées, des Fougères, et une Equisétinée rapportée aux *Phyllotheca*, mais dans laquelle je verrais plutôt un *Schizoneura*, et elles me donnent, comme à M. Nathorst, l'impression d'une flore rhétienne; toutefois les données sont trop insuffisantes pour qu'il soit possible de se prononcer avec quelque certitude.

Aux États-Unis (1), M. Lester Ward a résumé ce que l'on sait des flores jurassiques observées sur divers points, notamment dans l'Orégon, mais dont la plus riche paraît être celle d'Oroville en Californie, au sujet de laquelle M. Fontaine a complété les premières indications publiées par lui en 1896 : il a reconnu dans cette flore, qui appartient probablement à l'Oolithe inférieure, avec un certain nombre de formes jurassiques déjà observées ailleurs, plusieurs espèces nouvelles, appartenant aux genres *Adiantites*, *Cladophlebis*, *Tæniopteris*, *Angiopteridium*, *Ctenis* et *Ctenophyllum*, ainsi que de curieux épis de fructification, *Carpolithus Storrsii*, qui ne laissent pas de rappeler quelque peu le *Schizolepis* (?) *retroflexa* Nath. du Jurassique supérieur du Spitzberg.

Les autres gisements jurassiques à végétaux fossiles des États-Unis, qui semblent appartenir à la partie la plus élevée du système oolithique, n'ont fourni que des échantillons à structure conservée, troncs de Cycadinées ou bois de Conifères : M. Lester Ward a décrit, du Colorado, un *Cycadeoidea* nouveau, et du Wyoming vingt espèces différentes d'un nouveau type générique de tiges, qui se distinguent des *Cycadeoidea* par leurs dimensions réduites, et surtout par la présence, sur les bases persistantes des pétioles, d'écailles et poils ramenteux du type habituel connu chez les Bennettitées, mais beaucoup plus développées encore, formant autour de ces tiges une enveloppe de 5 à 15 millimètres d'épaisseur qui en masque complètement la surface; il a donné à ce genre le nom de *Cycadella* (2). Ces mêmes gisements du Wyoming ont fourni également des bois fossiles, que M. Knowlton rapporte avec quelque doute aux *Araucarioxylon*. Ce même auteur a décrit en outre un autre bois de Conifère, du Jurassique supérieur des Black Hills, dans le sud du Dakota, qui lui a offert tous les caractères

(1) Lester F. Ward : Status of the mesozoic Floras of the United States. I. The older mesozoic, by L. F. W. with the collaboration of W. M. Fontaine, Atreus Wanner and F. H. Knowlton (*20th Ann. Rep. U. S. Geol. Surv.*, pt. II; 1900).

(2) Lester F. Ward : Description of a new genus and twenty new species of fossil Cycadean trunks from the Jurassic of Wyoming (*Proc. Washington Acad. sci.*, I, p. 253-300, pl. XIV-XXI; 1900).

Digitized by Google

des bois de Pins, et qu'il désigne, non sous le nom habituel de *Pityoxylon*, mais sous l'appellation nouvelle de *Pinoxylon*.

Un peu au-dessus de ce niveau à bois fossiles, on a rencontré, en deux ou trois points de cette même région des Black Hills, de riches gisements de troncs de Cycadinées du genre *Cycadeoidea*, dont l'âge a donné lieu à d'assez longues discussions, M. Marsh notamment (1) les rapportant, ainsi même que les gisements similaires du Maryland, au sommet du Jurassique, et les assimilant aux couches anglaises de Purbeck à troncs de Cycadinées, tandis que M. Lester Ward les tient, les uns comme les autres, pour infracrétacés. Bien que cette dernière opinion semble devoir prévaloir, je résumerai ici, plutôt que de les reporter au prochain chapitre, les très intéressantes observations faites sur ces tiges de Cycadinées, dont les différents gisements connus paraissent se grouper au voisinage de la limite commune du Crétacé et du Jurassique, les uns un peu au-dessus, les autres un peu au-dessous.

Au nombre de ces derniers sont les gisements classiques de Purbeck, dans l'île de Portland, dans lesquels on a recueilli récemment un magnifique tronc mesurant 1 m. 20 de hauteur sur 30 à 35 cm. de diamètre, que M. Seward a reconnu (2) pour une forme spécifique nouvelle, à laquelle il donne le nom de *Cycadeoidea gigantea ;* entre autres particularités intéressantes, cet échantillon, qui a offert la structure habituelle des tiges de ce genre, présente à son sommet un bourgeon saillant, de forme tronconique, rappelant beaucoup ceux des *Encephalartos*.

Mais les échantillons américains ont ouvert à l'étude un champ beaucoup plus vaste : M. Lester Ward (3) n'a pas reconnu parmi eux moins de 34 espèces nouvelles de *Cycadeoidea*, dont six provenant des couches à minerai de fer du Maryland, appartenant à la série infracrétacée du Potomac, vingt-sept provenant des Black Hills du Dakota méridional et une d'une localité du Wyoming située à l'ouest des Black Hills. Les échantillons de cette région des Black Hills, au nombre de plus de 700, dont beaucoup, il est vrai, ne sont que des fragments de

(1) O.-C. Marsh : The Jurassic Formation on the Atlantic Coast. Supplement (*Amer. Journ. Sci.*, 4th ser., VI, p. 105-115; 1898); Cycad Horizons in the Rocky Mountain Region (*ibid.*, VI. p. 197; 1898).

(2) A.-C. Seward : On Cycadeoidea gigantea, a new Cycadean stem from the Purbeck beds of Portland (*Quart. Journ. Geol. Soc.*, LIII, p. 22-39, pl. I-V; 1897).

(3) Lester F. Ward : Description of the species of *Cycadeoidea*, or fossil Cycadean trunks, thus far discovered in the Iron Ore Belt, Potomac Formation, of Maryland (*Proc. Biol. Soc. Washington*, XI, p. 1-17; 1897); Description of the species of *Cycadeoidea*, or fossil Cycadean trunks, thus far determined from the Lower Cretaceous Rim of the Black Hills (*Proc. U. S. Nat. Mus.*, XXI, p. 195-229; 1898); The Cretaceous Formation of the Black Hills as indicated by the fossil plants (19th *Ann. Rep. U. S. Geol. Surv.*, pt. II, p. 521-958, pl. LIII-CLXXII; 1899); Elaboration of the fossil Cycads in the Yale Museum (*Amer. Journ. Sci.*, X, p. 327-345, pl. II-IV; 1900).

Digitized by Google

mêmes troncs, ont été réunis dans le Musée de la Yale University à New Haven, où M. Wieland en a entrepris (1) l'étude anatomique et n'a pas tardé à faire sur eux des découvertes qui doivent compter parmi les plus importantes dont la paléobotanique se soit enrichie dans ces dernières années. La plupart d'entre eux sont relativement courts, de forme bulbeuse ou ovoïde, quelques-uns seulement franchement cylindriques ; le diamètre en est très variable, les plus gros atteignant ou dépassant même 50 centimètres ; un bon nombre sont ramifiés, ou plutôt groupés comme en bouquet et se réunissant entre eux à la base. Plusieurs sont munis de leur bourgeon terminal, et tous ou presque tous montrent, à leur surface, les rosettes caractéristiques correspondant aux insertions des inflorescences, dont quelques-unes sont demeurées intactes entre les bases de pétioles et les bractées qui les entouraient. L'examen d'un de ces bourgeons terminaux, appartenant au *Cyc. ingens*, y a fait reconnaître des frondes pinnées, à préfoliation érigée, les folioles se montrant dressées verticalement, rapprochées les unes des autres en deux séries imbriquées obliques sur le plan de symétrie, et affectant exactement la disposition que l'on observe chez les *Dioon* et les *Zamia*. Ces folioles, au nombre d'environ 20 paires dans chaque fronde, de forme linéaire-lancéolée, à nervures parallèles dichotomes, appartiennent au type des Zamitées et rappelleraient surtout, d'après la figure un peu schématique qu'en donne l'auteur, celles des *Podozamites*.

(1) G. R. Wieland : Cycadean Monœcism (*Amer. Journ. Sci.*, 4e. ser., VIII, p. 164; 1899); A study of some American fossil Cycads. Part I. The male flower of Cycadeoidea (*ibid.*, VII, p. 219-226, pl. II-IV; 1899); Part II. The Leaf structure of Cycadeoidea (*ibid.*, VII, p. 305-308; pl. VII); Part III. The female fructification of Cycadeoidea (*ibid.*, VII, p. 383 391, pl. VIII-X; 1899); Part IV. On the microsporangiate fructification of Cycadeoidea (*ibid.*, XI, p. 423-436, 3 fig.; 1901); The Yale Collection of fossil Cycads (*Yale Scientific Monthly*, VI, March 1900; 11 p., 3 fig.).

(A suivre).

450 Lille, imp. Le Bigot frères. Gérant : Th. Clerquin

Digitized by Google

SUR LA RELATION

ENTRE LES

CARACTÈRES DES HYBRIDES & CEUX DE LEURS PARENTS

par M. **HUGO DE VRIES**

L'intérêt si général qu'on porte aujourd'hui aux recherches sur les hybrides repose en grande partie sur l'espoir qu'un jour il deviendra possible d'en prédire les résultats. L'expérimentateur en a besoin pour le choix des plantes et des caractères auxquels il doit s'adresser pour trouver la réponse aux questions qu'il s'est posées et l'horticulteur pour diminuer le nombre de ses tâtonnements, et pour décider en quelles circonstances et de quelle manière il peut être utile de prolonger ses expériences durant les générations successives. Toute indication d'une loi ou d'une règle qui permettra de juger d'avance le résultat d'une hybridation avec quelque degré de probabilité est préférable au vague et à l'incertitude qui régnaient en cette matière jusque dans ces dernières années.

Il est évident que toute prédiction de ce genre doit prendre son point de départ dans les caractères visibles des plantes ou en général des organismes qu'on veut combiner par le croisement. Ce qu'il faut connaître, c'est le rapport entre la nature des caractères et le résultat des hybridations.. Seulement, il n'est pas facile de juger la nature des caractères. On distingue les caractères des espèces de ceux des variétés, les caractères jeunes des plus anciens au point de vue phylogénétique, on connaît les modifications locales, les adaptations et plusieurs autres groupes plus ou moins précis.

La cause pour laquelle les écrits de Mendel ont eu si peu d'influence lors de leur publication, et pour laquelle l'étude et la citation de ses mémoires par Focke et tant d'autres auteurs n'a pas réussi davantage à en faire apprécier la valeur, réside sans doute dans le fait que Mendel n'entrevoyait pas la relation entre les résultats de ses croisements et la nature des caractères choisis. Les lois

Digitized by Google

qu'il a découvertes et exposées d'une manière si claire et si magistrale étaient valables pour quelques caractères de ses Pois, mais non pour d'autres ; elles ne l'étaient pas davantage pour ses croisements d'*Hieracium*. La cause lui en restait inconnue et il n'a pas reconnu la portée de sa loi.

La théorie généralement acceptée de la sélection naturelle ne saurait servir de base à une distinction de caractères classés d'après leur sort dans les croisements. Dans cette théorie, tous les caractères sont de même aloi, tous ont évolué de la même manière, lentement, sans secousses, sous l'influence des conditions extérieures de la vie. Il n'y a pas de raison pour qu'un caractère se comporte à son égard autrement qu'un autre.

Cette difficulté disparaît si on accepte la notion des unités dans les caractères héréditaires. Cette notion nous amène à distinguer différentes catégories de caractères. En premier lieu, il devient nécessaire de distinguer entre les caractères intimes, qui forment ces unités, et les marques extérieures et visibles par lesquelles ils se traduisent à nos yeux. Tel caractère intime peut n'être visible que dans un seul organe, tel autre peut apparaître sur plusieurs parties ou même sur tout l'organisme. La couleur des fleurs peut se répéter dans les fruits et même dans la tige et les feuilles, la panachure des feuilles peut empêcher en partie leur développement et même changer leurs formes. Tout un groupe de changements visibles, en apparence plus ou moins liés, peut être la suite de l'acquisition d'un seul caractère intime, c'est-à-dire d'une seule unité héréditaire.

Deux organismes, possédant exactement les mêmes unités, sont de droit les mêmes; mais pourtant ils ne sont pas absolument identiques; car chaque caractère dépend dans son développement des circonstances extérieures, qui peuvent lui être favorables ou défavorables, et cela à des degrés très différents. Ce développement inégal d'un même caractère dans différents individus d'une même espèce, ou même dans différents organes d'un même organisme est la cause de la variabilité dite individuelle ou mieux fluctuante, dont les lois nous ont été décelées par Quételet. Le développement peut être moyen, ou s'éloigner plus ou moins de la moyenne; dans ce dernier cas on a, à côté des caractères intimes qui déterminent le type, d'autres marques moins essentielles qui délimiten

Digitized by Google

ces déviations. Pour distinguer clairement ces dernières des caractères types, M. Tschermah a récemment proposé de les appeler *variatifs*.

Les caractères types prennent, à mon opinion, leur origine par des secousses, que, longtemps avant Darwin, on a appelées des mutations; ils correspondent aux unités dont il vient d'être question plus haut. C'est pour cela que M. Tschermah a désigné les marques visibles qui en sont les signes extérieurs par le nom de caractères *mutatifs*.

Cette distinction importante établie, il est bien clair qu'on devra s'attendre à ce que les caractères variatifs et mutatifs donneront des résultats bien différents dans les croisements. Pour pouvoir juger d'avance l'issue d'une hybridation, il est donc évidemment de première importance de pouvoir toujours se rendre compte à laquelle de ces deux catégories doit être rapporté le caractère qu'on a en vue.

Mes expériences ont été limitées à l'étude des caractères types ou mutatifs. Mais entre ceux-ci il y a encore des différences très essentielles dont on peut s'attendre à rencontrer l'influence dans les hybridations. Elles ont rapport à l'antagonisme entre l'évolution progressive et les changements ataviques, qui sont évidemment de nature secondaire.

D'après la théorie des mutations l'évolution des organismes s'est faite par degrés. Chaque pas dans la direction ascendante a ajouté un caractère nouveau aux qualités déjà présentes, augmentant ainsi d'une seule unité le nombre total des caractères. Il est clair que dans un genre donné le parent le plus proche d'une espèce doit être la forme dont elle a pris son origine de cette manière. Chaque pas de plus diminuera la parenté, et s'il n'y a pas d'autre complication, le nombre de ces pas, c'est-à-dire le nombre des unités qu'une espèce possède de plus qu'un autre forme alliée, peut être regardé comme une mesure du degré de parenté. Dans la nature les différences entre les espèces d'un même genre sont ordinairement trop grandes pour être attribuées à une seule unité héréditaire, mais cela tient selon toute probabilité à l'extinction des formes intermédiaires. Et en tous cas les différences entre la plupart des espèces alliées de la flore d'un pays d'étendue restreinte ne sauraient nous servir de guide dans l'appréciation de ces unités. Ce ne sont que

Digitized by Google

les groupes riches en espèces affines, comme le *Draba verna*, le *Viola tricolor*, l'*Helianthemum vulgare* et tant d'autres qui peuvent nous apprendre à connaître ces différences élémentaires.

L'addition d'un caractère élémentaire nouveau aux caractères-types précédemment acquis, constitue ce que j'ai appelé une mutation *progressive*. Le nombre des unités s'en trouve changé, et voilà une conséquence très essentielle pour l'appréciation des croisements.

Une fois acquis, un caractère n'est pas nécessairement toujours doué de la faculté de devenir apparent dans le développement de l'individu, et d'imprimer à celui-ci les marques extérieures visibles dont il est la cause. Il peut perdre cette qualité, et sans qu'il soit perdu lui-même, devenir inactif. Dans ce cas, il garde sa place parmi les autres caractères, mais il ne se traduit pas dans le cours ordinaire des choses. Il a quitté, comme on dit, l'état actif pour rentrer à l'état latent. Dans cet état il peut être transmis de génération en génération, comme l'a démontré, il y a longtemps, Darwin. La plupart de nos variétés horticoles, et beaucoup de variétés systématiques doivent leur origine à un changement de cette nature. C'est une mutation dans la direction atavique, une mutation *rétrogressive*, comme je l'ai nommée. Mais il est bien clair que le rapport entre une espèce avec son espèce-mère doit être tout autre qu'entre l'espèce et sa variété, même quand il s'agit du même caractère. Car l'espèce-mère ne possède pas du tout le caractère en question, ou si l'on veut, sa particule représentative, tandis que la variété la possède bien, mais seulement à l'état latent. Si l'on considère les deux croisements qui correspondent à cet exposé, le croisement entre une espèce et sa forme-mère impliquera un nombre inégal de caractères dans les deux parents de l'hybride, tandis que dans le croisement entre l'espèce et sa variété, le nombre des caractères sera égal des deux côtés.

La transition de l'état actif à l'état latent n'est pas le seul changement qu'un caractère élémentaire puisse subir; bien évidemment il peut aussi faire retour de l'état latent à l'état actif. Mais en outre, il y a des états intermédiaires. Dans ceux-ci le caractère ne se trahit que partiellement, dans un nombre restreint des individus ou des organes d'une même plante. Si cette apparition est rare, on peut appeler l'état du caractère demi-latent, si elle est fréquente, atteignant la moitié des individus ou environ, on a des races comme le

Digitized by Google

trèfle à cinq feuilles, les fleurs doubles, etc. Ces formes jouissent ordinairement d'une très grande variabilité, qu'elles doivent à l'antagonisme de deux caractères qui ne sauraient se rendre visibles en même temps et dans le même organe, et qui luttent, pour ainsi dire, pour la préférence.

C'est toujours par une secousse ou mutation que l'état d'activité d'un caractère se trouve changé. Il n'y a pas lieu de distinguer entre toutes les possibilités qui s'offrent ici, et c'est pour cela que je les ai désignées toutes ensemble par le nom de *dégressives*. Les mutations dégressives et rétrogressives comprennent donc ensemble tous les changements brusques dans l'état d'activité des caractères élémentaires. Mais elles concordent en ce point que le nombre des particules représentatives ne se trouve pas changé.

La plupart de nos variations inconstantes, et qui doivent leur grande variabilité, d'après ce que je viens de dire, à l'antagonisme de deux caractères intimes qui s'excluent réciproquement dans les formes visibles des plantes, doivent être considérées comme devant leur origine à une mutation régressive. Au point de vue des croisements elles appartiendront au groupe, dans lequel le nombre des qualités intimes est le même des deux côtés et se rattacheront par là aux croisements des variétés constantes ou d'origine rétrogressive.

Nous aurons ainsi, dans le domaine des caractères mutatifs, deux types de combinaisons pour les croisements, à savoir :

1° Les deux parents n'ont pas le même nombre de caractères élémentaires, leur différence est de nature progressive.

2° Les deux parents ont le même nombre de caractères élémentaires, mais un ou plusieurs de ceux-ci se trouvent dans un état d'activité différent (latent ou actif, semi-latent ou semi-actif). La différence est de nature rétrogressive ou dégressive.

En principe le premier type correspond aux croisements entre différentes espèces élémentaires, et le second aux croisements entre les variétés proprement dites. Et, à mon opinion, le meilleur serait de définir ces termes de *façon à rendre cette règle générale.*

Mes expériences ont eu pour but de décider si les résultats des hybridations répondent à ce que les déductions exposées ci-dessous en font attendre, et de savoir, au cas d'une réponse positive, de quelle nature serait la différence visible entre les deux types pro-

Digitized by Google

posés. Je ferai précéder leur description par l'exposé de la thèse générale à laquelle elles m'ont conduit. Cette thèse peut s'exprimer comme il suit :

1° Les croisements entre des formes, dont la différence est de la nature de celle des espèces élémentaires ou progressive, donnent des hybrides constants.

2° Les croisements entre des formes, dont la différence est de la nature des variétés proprement dites, rétrogressive ou dégressive, donnent des hybrides dont la progéniture se disjoint suivant les lois découvertes par *Mendel* pour les Pois.

3° Quand la différence entre les deux parents d'un hybride est en partie de nature progressive et, pour d'autres caractères, de nature rétrogressive ou dégressive, la progéniture de l'hybride ne change pas pour les premiers, mais se disjoint pour les derniers.

Les deux premiers cas sont simples, mais relativement rares, le troisième est le cas ordinaire pour la grande majorité des croisements, exécutés par divers auteurs.

Je passe maintenant à la description de mes expériences (1). J'en ai déjà exposé une partie dans une note insérée dans cette Revue (2), lorsque j'ai traité de la loi de disjonction, à laquelle sont soumis les croisements entre plantes présentant des caractères différents d'origine rétrogressive et dégressive. Dans cet article j'ai eu soin de ne choisir mes exemples que dans le premier groupe, parce qu'ils sont les plus clairs et les plus typiques. Pour cette raison, et pour les opposer aux faux hybrides de M. Millardet, je les ai appelés vrais hybrides, mais ce terme n'a pas été approuvé.

Comme les qualités de nature dégressive se rapprochent le plus des caractères rétrogressifs, je commencerai mon exposition par elles.

I. *Tricotylie.* — En croisant les races tricotyles héréditaires riches en individus à trois cotylédons avec les formes spécifiques correspondantes qui ne produisent cette anomalie que par exception, on

(1) Pour la description plus détaillée des expériences citées dans le texte, ainsi que pour les indications littéraires, je renvoie le lecteur au second volume de mon *Mutations-theorie*, qui est en voie de paraître chez MM. Veitung Comp. Leipzig.

(2) *Sur les unités des caractères spécifiques et leur application à l'étude des hybrides.* (*Revue générale de botanique*, T. XII, 1900, p. 257.)

Digitized by Google

obtient des hybrides dont la très grande majorité ne possède que deux cotylédons. J'ai obtenu ces hybrides par le croisement des races en question dans les *Antirrhinum majus, Cannabis sativa* et *Papaver Rhæas*. On a donc pour premier résultat, conforme aux lois de disjonction, que les hybrides de la première génération se conforment au caractère-type spécifique, c'est-à-dire au caractère le plus ancien au point de vue phylogénétique. Seulement cette conformation n'est pas absolue, car ordinairement cette première génération d'hybrides est un peu plus riche en individus à trois cotylédons que la forme typique.

En fertilisant ces hybrides entre eux ou avec leur propre pollen, à l'abri de toute influence extérieure, on obtient des graines qui donnent la seconde génération. Celle-ci se montre disjointe, elle contient trois sortes d'individus. Les uns sont des hybrides comme leurs parents, les autres sont retournés en partie au caractère du grand-père et en partie à celui de la grand'mère.

Toutefois on ne peut pas observer ce fait sur les individus de la seconde génération eux-mêmes, il est nécessaire de semer leurs graines, recueillies isolément pour chaque pied. En faisant ces semis, et en dénombrant leurs résultats, on s'assure que les hybrides de la seconde génération peuvent se répéter dans la troisième et que la race héréditaire tricotylidonée peut être isolée, comme le font prévoir les formules de *Mendel*. Le dénombrement exact se heurte dans ces expériences à de très grandes difficultés, étant donnée la variabilité transgressive des races employées pour les croisements, toutefois on peut se convaincre que le rapport entre les types du grand-père, de la grand'mère et de l'hybride est essentiellement le même qu'on trouve pour les hybrides des qualités rétrogressives, c'est-à-dire de 1 : 1 : 2.

II. *Syncotylie*. — J'ai choisi pour mes croisements la forme *Helianthus annuus syncotyleus* que j'ai décrite il y a plusieurs années dans le *Kruidkundig Jaarboek* de M. *Mac-Léod*. J'ai combiné cette race avec une variété d'*Helianthus annuus* très pauvre en individus à cotylédons soudés. Les hybrides avaient pour la plupart des cotylédons libres, seulement il y avait un peu plus d'exemplaires syncotylés que dans la forme type. Ces hybrides, fécondés entre eux, ont donné une seconde génération qui s'est

Digitized by Google

montrée disjointe de la même façon que dans les races tricotylées décrites ci-dessus. Une partie est restée hybride, une autre est retournée au type du grand-père, tandis que le troisième a amené le caractère de la grand'mère, et cela, autant que les chiffres permettent d'en juger, d'après la formule 2 : 1 : 1 citée plus haut.

III. *Fleurs striées d'Antirrhinum majus.* Les variétés striées de cette espèce sont composées en partie d'individus à fleurs striées, et en partie d'exemplaires à fleurs uniformément rouges. En croisant cette forme avec une variété blanche, on ne peut donc pas s'attendre à obtenir une génération d'hybrides plus uniforme que la variété pure elle-même. J'ai exécuté ce croisement en 1897; presque tous les hybrides (228 exemplaires) étaient striés, à l'exception de 7 qui n'avaient que des fleurs rouges. La couleur blanche a été totalement récessive. L'année suivante j'ai fécondé quelques hybrides striés par leur propre pollen, et leur progéniture (125 exemplaires) s'est disjointe conformément à la formule de Mendel, 67 °/₀ était striés, 2 °/₀ rouges et 31 °/₀ blancs. Le caractère récessif est donc réapparu dans une proportion, s'approchant de 25 °/₀, le nombre moyen qui se déduit des formules.

Les fleurs striées de *Papaver nudicaule* et les fruits striés du *Zea Mais* dit « Arlequin », se comportent de la même manière.

IV. *Le trèfle à cinq feuilles* suit la même loi dans ses croisements avec le trèfle ordinaire. Les hybrides sont un peu plus riches en feuilles à 4-5 folioles et peuvent être reconnus à ce caractère. Par ce moyen il est relativement aisé de les distinguer du type spécifique, mais de l'autre côté la limite entre les hybrides et les individus retournés au type de la race est très vague et incertaine. J'ai trouvé dans la seconde génération, pour 220 plantes, 52 °/₀ d'individus hybrides ou retournés à la race anormale, et 15 °/₀ d'individus retournés au type spécifique.

V. *La panachure des feuilles* a été étudiée par des croisements entre une race panachée et une race verte de l'*Oenothera Lamarckiana.* Les hybrides étaient pour la plupart verts, mais il y en avait aussi de panachés, ce qui s'explique en observant que la race verte employée n'était pas pure, mais produisait elle-même de temps en temps des individus à feuillage bigarré. De même pour le croisement entre les races correspondantes de *Nicotiana macrophylla.*

Digitized by Google

VI. *Les fleurs doubles* ont été croisées avec les formes correspondantes simples dans diverses variétés de Pavot (*Papaver somniferum*). Les hybrides sont ordinairement simples, ou ne présentent que de rares étamines pétaloïdes. Toutefois ils peuvent de temps en temps montrer le caractère double à un degré plus ou moins élevé. Mais la duplicature normale ne réapparaît ordinairement que dans la seconde génération, et cela dans la mesure prescrite par la formule de Mendel. Pour cinq croisements, après avoir fertilisé les hybrides par leur propre pollen, j'ai eu en moyenne 27 °/o de plantes à fleurs complètement doubles, tandis que la règle de Mendel en exige 25 °/o. Les autres (79 °/o) étaient en partie des hybrides, qui se disjoignirent de nouveau dans la génération suivante, et en partie des exemplaires à fleurs simples, dont la progéniture est restée constante.

VII. *Les fleurs à pétales laciniés* du Pavot somnifère se sont conduites dans les croisements avec les formes normales de la même manière.

VIII. *La polycéphalie* des Pavots suit encore les mêmes lois. Les hybrides ont très rarement des étamines métamorphosées et se disjoignent dans la deuxième génération en trois types, l'un hybride, les deux autres à caractère constant, d'un côté à étamines normales et de l'autre à carpelles surajoutés.

Dans la troisième génération les hybrides de la seconde se disjoignirent de nouveau en produisant de 25 à 37 °/o d'individus à carpelles secondaires.

En résumant les résultats de ces expériences, on voit que les caractères dégressifs étudiés dans leurs croisements avec les formes correspondantes se conduisent en général comme le demandent les formules de Mendel. La nécessité de cultures très amples et la variabilité transgressive peuvent diminuer l'exactitude des chiffres trouvés, et sans doute il sera nécessaire de répéter ces expériences sur une plus grande échelle, toutefois, il me paraît que la thèse principale peut être regardée dès maintenant comme bien fondée.

Cette conclusion, combinée aux faits exposés dans ma note précédente nous conduit donc à admettre l'exactitude de la deuxième des propositions énoncées ci-dessus (p. 9), que les croisements entre des formes, dont la différence est de la nature des variétés

Digitized by Google

proprement dites, rétrogressive ou dégressive, donne des hybrides dont la progéniture se disjoint selon les formules données par Mendel pour les Pois.

La première de ces trois propositions traite des différences qui sont de la nature de celles des espèces élémentaires, c'est-à-dire de nature progressive. Elles donnent dans leurs croisements des hybrides à progéniture constante. Cette proposition repose en partie sur des hybridations que j'ai exécutées moi-même, mais principalement sur l'étude de différentes races hybrides constantes produites ou découvertes par d'autres auteurs.

Pour étudier ce genre de croisements j'ai choisi principalement le genre *Oenothera*, et dans celui-ci le sous-genre *Onagra*, dont les formes sont si affines qu'elles ont souvent été réunies par les auteurs en deux ou même en une seule espèce systématique (*O. biennis*). Ces formes sont néanmoins bien tranchées et bien constantes. J'ai tâché de produire les hybrides entre les principales espèces de ce groupe, que j'avais en culture, mais je ne suis pas encore parvenu à avoir des générations successives de chaque hydride. Je choisirai pour exemple le croisement entre les *Œnothera muricata L.* et *Œ. biennis L.*, qui sont, chez nous, des espèces très répandues et bien connues. J'ai exécuté le croisement en 1895, en choisissant l'*Œ. muricata* comme mère. J'en ai eu de 1896 à 1900 quatre générations successives, qui ont montré toutes le même type, sans aucun changement et sans aucune disjonction. Les hybrides avaient le port de l'*Œ. biennis*, ses feuilles et ses fleurs. Mais les feuilles des rosettes étaient plus étroites, et l'épi des fleurs était plus dense, deux caractères de l'*Œ. muricata*. Toutes ces plantes avaient une fertilité très amoindrie; dans la plupart des auto-fécondations que j'ai exécutées, je n'ai obtenu qu'un très petit nombre de graines. Pour cette raison, mes cultures ne comprenaient chaque année qu'un nombre limité d'individus; j'en ai eu en tout environ 400, dont 100 ont fleuri, j'ai obtenu la quatrième génération en 1902 et plusieurs plantes ont fleuri. Mais l'été de cette année a été très défavorable à mes cultures et je n'ai recueilli aucune graine. Toutefois, une bonne partie de mes plantes sont restées à l'état de rosettes et fleuriront probablement en 1903.

Les *Œnothera muricata* et *biennis* qui ne se distinguent pas par des caractères comme on les rencontre ordinairement dans les

Digitized by Google

variétés d'autres plantes, mais seulement par des marques analogues à celles d'autres espèces élémentaires, donnent donc des hybrides, dont tous les caractères sont constants dans les générations successives. J'ai vérifié ce résultat pour d'autres croisements dans le même genre, mais il va de soi qu'il y a aussi des formes dont les caractères sont de nature rétrogressive et dégressive, et qui, pour cette raison, suivent les lois de Mendel, je citerai comme exemple l'*Œ. brevistylis.*

Le nombre des races hybrides, dont tous les caractères sont constants, n'est naturellement pas grand.

La plus connue est l'*Ægilops speltaeformis*, ou (*Æ. ovata* × *Triticum vulgare*) × *Triticum vulgare*, produit et étudié par Godron. Dans le genre *Anemone* M. Janczewski a décrit plusieurs hybrides, et la combinaison *A. magellanica* × *A. sylvestris* donne une race constante et féconde, que M. Janczewski n'hésite pas à considérer comme une nouvelle espèce. Le *Medicago media* (*M. falcata* × *sativa*) est un hybride de la grande culture, qui a été produit expérimentalement par M. Urban et qui est tout-à-fait constant. L'*Epilobium tetragonum* × *montanum* est resté le même pendant quatre générations. Plusieurs hybrides d'Orchidées sont devenus des races bien fixées. *Geum intermedium*, *Veronica Andersonii* et quelques autres hybrides peuvent être cités à l'appui de la même thèse.

A ces arguments, on peut joindre la liste très remarquable d'hybrides spontanés qui se propagent par leurs graines dans la nature sans éprouver de changements, que Kerner de Marilaun a dressée dans différentes publications. Je relève les *Rhododendron intermedium*, *Salvia sylvestris*, *Nuphar intermedium*, *Epilobium scaturigerum*, *Brunella hybrida*, toutes formes hybrides sauvages et constantes, et je joins à cette liste les observations correspondantes du même auteur sur les hybrides suivants : *Asplenium germanicum*, *Corydalis pumila*, *Hieracium brachiatum*, *Marrubium remotum*, etc.

Quant à notre troisième catégorie, comprenant les hybrides à caractères en partie constants et en partie sujets aux lois de disjonction, ils sont tellement abondants dans la nature et dans la culture, qu'il ne me paraît pas nécessaire d'en donner des exemples.

Les résultats des croisements publiés dans les dernières années par MM. Cuénot, Bateson, Correns, Tschermah et autres, me sem-

Digitized by Google

blent confirmer la thèse proposée dans cette note et les exceptions apparentes se dissiperont sans aucun doute par un examen plus approfondi.

L'explication du principe énoncé peut être trouvée dans l'hypothèse que Mendel a donnée à propos de sa loi. Il suppose qu'au moment de la production des cellules sexuelles, les qualités antagonistes sont simplement échangées, et que cet échange suit la loi de la probabilité. Mais pour un tel échange, il est évidemment nécessaire que chaque qualité trouve son adversaire. Or, c'est naturellement le cas pour les différences de nature rétrogressive et dégressive ; les deux parents d'un hybride possédant pour le point en question la même particule représentative, mais à des états d'activité différents. D'un autre côté, les différences d'origine progressive entre deux formes choisies pour un croisement impliquent justement que le caractère en question est présent dans l'une, mais manque dans l'autre. Donc, il n'y a pas d'antagonisme et un échange est impossible.

Cet échange étant la cause première de la disjonction, ce phénomène ne saurait donc se produire.

L'échange des particules représentatives et la loi de disjonction s'appliquent selon toute probabilité partout où il y a antagonisme de ces particules, en premier lieu à la fécondation normale, mais aussi aux différences entre les individus, causées par la variation fluctuante ou individuelle.

Les propositions énoncées s'appliquent à l'état normal ou immutable des caractères. Dans les périodes de mutabilité les unités spécifiques se trouvent dans un état d'équilibre instable et suivent, pour cette raison, d'autres lois dans leurs croisements.

Digitized by Google

RECHERCHES

SUR LA FERMENTATION PROPRE

par MM. L. MATRUCHOT et M. MOLLIARD *(suite)*

(Planches 10 à 13)

CHAPITRE DEUXIÈME

ÉTUDE CYTOLOGIQUE

Nous venons de voir dans le chapitre précédent que, parmi les organes végétaux soumis à l'expérience, c'est le fruit du Potiron qui nous a fourni le plus facilement des échantillons rigoureusement aseptiqués; aussi c'est d'abord dans la pulpe de ce fruit que nous étudierons les modifications cytologiques qui surviennent pendant la vie anaérobie; nous supposerons en premier lieu que nous nous adressons exclusivement à des échantillons qui se sont montrés exempts de tout microorganisme, pour étudier ensuite les variations de ces modifications lorsque l'âge du fruit, la température ou quelques autres conditions dans lesquelles s'effectuent les expériences viennent à varier ; puis nous verrons comment se comportent les mêmes cellules quand des bactéries se développent.

Lorsque le Potiron nous aura fourni des résultats qui se trouveront être à l'abri des causes d'erreur signalées, nous les étendrons à d'autres organes de végétaux supérieurs tels que les tubercules de Betterave, les feuilles du bulbe de l'Oignon, la Pomme; enfin nous rechercherons dans quelle mesure on peut les étendre à des organismes inférieurs tels que des Mucorinées, capables de produire la fermentation alcoolique aux dépens de solutions sucrées, lorsqu'on les prive d'oxygène.

Digitized by Google

I. — POTIRON (*CUCURBITA MAXIMA* L.)

(Planches 10 à 12, fig. 1 à 47)

Nous supposerons tout d'abord que les morceaux de Potiron soumis aux expériences ont été prélevés sur des fruits ayant atteint leur complet développement et conservés jusque vers les mois de janvier, février ou mars qui suivent leur récolte ; afin de considérer des cellules comparables, nous envisagerons uniquement les cellules du parenchyme général, à une distance à peu près égale de la périphérie et de la cavité centrale du fruit.

A moins d'indication contraire, les matériaux que nous avons étudiés ont été fixés par le liquide de Flemming (solution forte) et colorés soit à la safranine seule, soit d'après la méthode de triple coloration à la safranine, au violet de gentiane et à l'orange G.

A. — Structure normale des éléments cellulaires du parenchyme fondamental (Pl. 10, fig. 1-3)

Les cellules de ce parenchyme (Fig. 1), de dimensions assez variées mais mesurant en moyenne 80 μ de diamètre, présentent un protoplasma peu abondant, légèrement granuleux, visible surtout dans la région où se trouve le noyau, ainsi qu'autour des chromoleucites ; là, il forme des masses relativement importantes, n'étant plus représenté ailleurs que par de fines bandes accolées à la membrane cellulaire.

Le noyau de ces cellules (Fig. 2*a*, 2*b*), assez volumineux (15 à 10 μ) présente généralement un contour irrégulier, indice d'une faible turgescence ; il est en outre le plus souvent aplati parallèlement à la région de la membrane dans le voisinage de laquelle il se trouve ; à son intérieur on observe, réparti d'une manière homogène dans toute sa masse, un réseau chromatique dont les filaments sont très fins et souvent difficiles à mettre en évidence ; aux nœuds de ce réseau apparaissent des masses chromatiques très nettes ; entre les mailles le suc nucléaire se montre, après fixation par le liquide de Flemming, très finement granuleux, ce qui donne au noyau normal un aspect assez opaque ; enfin, outre les pseudo-nucléoles que nous venons de mentionner aux nœuds du

Digitized by Google

réseau chromatique, on reconnaît l'existence d'un nucléole (Fig. 2*b*), quelquefois de 2 ou 3 de ces corps (Fig. 2*a*) placés dans le voisinage l'un de l'autre ; dans ce dernier cas la taille de chacun d'eux est moindre que lorsqu'il n'en existe qu'un seul et se rapproche beaucoup de celle des plus gros pseudonucléoles.

Il n'est pas rare, lorsqu'il n'existe qu'un seul nucléole, d'observer près de lui, et diamétralement opposés, deux pseudonucléoles plus gros que les autres (Fig. 1). Quelquefois, et cela dans les régions relativement profondes de la pulpe, le nucléole présente une ou plusieurs vacuoles.

Les chromoleucites, qui dérivent des amyloleucites des jeunes fruits, sont dans chaque cellule au nombre moyen de 10, et sont répartis assez uniformément dans le cytoplasma pariétal, sauf aux environs du noyau où ils sont plus étroitement groupés ; chacun d'eux est à peu près sphérique, mesure environ 10 μ de diamètre, et se trouve constitué, en dedans d'une membrane propre, par un réseau protoplasmique pariétal, avec prédominance du cytoplasma vers un pôle qui correspond à la région où le protoplasma est le plus riche en substance colorable.

Passons en revue les modifications qu'on observe d'une part sur le noyau, d'autre part sur le cytoplasma et les leucites, lors de la vie anaérobie.

B. — Modifications présentées par le noyau pendant la fermentation propre (Pl. 10, fig. 4-19)

Examinons les noyaux de cellules ayant subi la vie anaérobie pendant des temps de plus en plus longs ; les variations que nous allons observer sont en effet très graduelles et nettement en corrélation avec le temps qu'a duré la fermentation propre.

Structure du noyau après 10 jours de fermentation. — La première différence qui frappe lorsqu'on examine le noyau d'une cellule ayant fermenté quelques jours est la forme régulière, ordinairement sphérique, quelquefois ellipsoïdale, qu'il a acquise ; en même temps son diamètre a augmenté d'une manière appréciable ; il suffit pour s'en convaincre de comparer les noyaux normaux (Fig. 2*a*, 2*b*) avec tous les noyaux représentés plus loin (Fig. 4-19) au même grossissement et qui correspondent à des cellules asphyxiées ; de 12 μ le diamè-

Digitized by Google

tre a atteint en moyenne 18 μ; cette forme régulière et mieux encore l'augmentation du diamètre sont l'indice d'un accroissement de la turgescence à l'intérieur du noyau.

En même temps la disposition du réseau chromatique subit des modifications très nettes; uniformément réparti, au début de l'expérience, dans toute la masse nucléaire, il ne tarde pas à devenir de plus en plus exclusivement périphérique; c'est ainsi qu'au bout de 10 jours d'asphyxie, on n'observe plus de pseudonucléoles qu'à la périphérie, comme le montrent les figures 4*a* et 5*a* qui correspondent à des noyaux vus en perspective, et les figures 5*b* et 6*a*, coupes optiques de noyaux comparables; la taille de ces pseudonucléoles s'est très sensiblement accrue et on trouve toutes les transitions entre ceux du noyau qui nous a servi de point de départ et des masses ayant le volume de véritables nucléoles.

D'autre part le réseau aux nœuds duquel on observe ces pseudonucléoles, devenu lui aussi le plus souvent entièrement périphérique, est beaucoup plus apparent que dans le noyau normal et ses mailles sont plus larges. Ce réseau n'est pas d'ailleurs devenu périphérique dès le début ni d'un seul coup, et au bout de 10 jours de fermentation on peut encore reconnaître dans certains noyaux l'existence de trabécules internes reliant des pseudonucléoles superficiels; c'est ainsi que dans la figure 6, représentant la coupe optique équatoriale d'un pareil noyau, on aperçoit plusieurs de ces trabécules et sur le parcours de certains d'entre eux le nucléole qui est encore dans la région centrale du noyau; de même dans la figure 4 *b*, où on observe deux filaments internes, quoique plus voisins de la membrane nucléaire que dans le cas précédent; ce dernier noyau présente de plus une particularité qu'on rencontre quelquefois, et qui consiste en une dyssymétrie provenant de ce que la matière chromatique est rejetée presque entièrement d'un seul côté du noyau, l'autre devenant presque totalement achromatique.

La première période de fermentation, qui s'étend jusque vers le dixième jour, est donc caractérisée par une augmentation de la turgescence du noyau, par la distension du réseau chromatique amenant comme résultat final le rejet de toute la partie chromatique du noyau à la périphérie, tout contre la membrane nucléaire.

Structure du noyau après 50 jours de fermentation. — Si on

Digitized by Google

examine le noyau dans des cellules qui ont fermenté plus longtemps, on n'observe, pour la période s'étendant entre 10 jours et 50 jours de vie anaérobie, que de lentes modifications ; c'est ainsi qu'au bout de 30 jours le noyau offre à peu de chose près le même aspect que celui que nous avons décrit pour une durée de 10 jours de fermentation ; la différence la plus saillante consiste en ce que les pseudonucléoles, encore très arrondis et par suite proéminents en dessous de la membrane nucléaire à l'intérieur du noyau (voir la coupe optique 5 *b*) se trouvent plus étroitement accolés contre la membrane nucléaire par suite de leur aplatissement à la surface interne de cette membrane ; ils arrivent même à repousser légèrement à leur niveau la membrane du noyau qui devient, en ces régions, un peu saillante par rapport à sa surface générale. Puis graduellement, sans qu'il nous paraisse nécessaire de décrire d'autres intermédiaires, on arrive à une structure réalisée vers le 50e jour de la fermentation propre et qui constitue un stade assez net dans la transformation subie par le noyau.

Ce dernier est toujours sphérique, et présente encore, par rapport à ceux qu'on observe au bout de 10 jours d'asphyxie, une augmentation appréciable de volume, ce qui paraît être en rapport avec une turgescence croissante du noyau. Tout le réseau chromatique est étroitement périphérique ; les mailles en sont plus larges que précédemment et les filaments qui le constituent moins faciles à distinguer, plus flous. Les masses chromatiques qui se trouvent aux angles de ce réseau vont en diminuant de nombre ; il est rare d'en observer à tous les nœuds et celles qu'on observe sont caractérisées par un contour moins net ; elles apparaissent comme assez larges, s'estompant sur leurs bords et se continuant insensiblement, en s'étoilant, par les filaments du réseau (Fig. 7, 8, 9).

Cette apparence est la plus commune, elle représente en quelque sorte le cas moyen ; mais on trouve, pour des noyaux asphyxiés pendant le même temps, des dispositions un peu différentes qui correspondent à une modification moins accentuée ou au contraire à une transformation plus profonde, toutes les cellules du parenchyme ne se comportant pas à cet égard d'une manière rigoureusement parallèle ; c'est ainsi que, dans les noyaux représentés par les figures 14 et 15, le nombre des pseudonucléoles est encore assez grand et leur contour est resté relativement net ; ils repré-

Digitized by Google

sentent un stade moins avancé de la transformation du noyau ; au contraire, dans les noyaux auxquels correspondent les figures 10 et 11, les masses chromatiques ont presque entièrement disparu aux angles du réseau ; elles font même complètement défaut, sauf aux environs du nucléole, dans les noyaux représentés par les figures 12, 13 et 16 ; ici nous sommes en présence d'une accentuation du phénomène que nous avons décrit pour les pseudonucléoles dans le cas moyen ; s'étalant de plus en plus et se fondant en quelque sorte avec les filaments du réseau, ils vont en diminuant de nombre et finissent par disparaître complètement ; on n'observe plus alors qu'un réseau fixant à peine les matières colorantes caractéristiques de la chromatine ; il y a donc, en même temps que disparition morphologique de ces pseudonucléoles, atténuation continue de la substance chromatique du noyau. En dehors de la région nucléolaire dont il nous reste à parler, il n'apparaît donc plus alors dans le noyau qu'un réseau presque achromatique, à larges mailles et formé par des filaments finement granuleux, relativement épais, sans pseudonucléoles aux angles.

Le nucléole lui aussi est devenu périphérique ; il a conservé le plus souvent sa forme sphérique sans avoir changé de taille d'une manière appréciable, et c'est lui, au stade qui nous occupe, qui apparaît le plus nettement dans le noyau, et cela non pas seulement par lui-même, non pas seulement parce qu'il fixe encore énergiquement les matières colorantes, telles que la safranine, mais aussi parce qu'on observe sur ses côtés une disposition très caractéristique et très apparente des pseudonucléoles voisins. Le plus souvent, en effet, en des régions situées aux extrémités d'un même diamètre du nucléole, on aperçoit deux masses chromatiques, allongées suivant le prolongement de ce diamètre, périphériques comme toutes les autres, et dont la largeur est exactement celle du nucléole ; on a l'impression d'un assez long cordon chromatique de largeur régulière et dans le milieu duquel est inclus le nucléole ; ces deux masses de chromatine *Ps* symétriques par rapport au nucléole s'observent facilement dans les noyaux représentés par les figures 7, 8, 10, 13, 14 et 15 ; elles sont homogènes ou bien, comme on le voit dans les noyaux des figures 8 et 14, se laissent décomposer chacune en deux ou trois masses chromatiques nettement distinctes, mais très rapprochées les unes des autres et réunies par une substance chroma-

Digitized by Google

tique; il existe entre deux de ces masses chromatiques secondaires la même distance qu'entre le nucléole et celles qui l'avoisinent.

On peut n'observer cette disposition que d'un seul côté du nucléole (Fig. 9 et 11) ou au contraire on peut reconnaître l'existence de trois de ces amas chromatiques disposés symétriquement autour du nucléole (Fig. 12) ; par un examen attentif il est aisé de reconnaître que ces masses chromatiques se prolongent, à leur extrémité opposée au nucléole, par deux ou trois filaments du réseau nucléaire ; elles se ramifient en effet à cette extrémité et chaque ramification se rétrécit insensiblement pour devenir un élément du réseau ; ce fait est particulièrement facile à observer dans les figures 9, 10, 11, 12 et 13.

On peut se rendre compte de la manière dont cette disposition s'est réalisée en remarquant que le nucléole est contenu dans un filament particulièrement épais du réseau, et cette épaisseur serait simplement en rapport avec la taille du nucléole ; ce filament devenant périphérique comme les autres, et le nucléole restant sphérique, il se trouve sur les côtés de ce dernier un espace plus considérable que partout ailleurs où la substance chromatique peut se concentrer ; il en résulte qu'il se constitue tout contre le nucléole une ou plusieurs masses chromatiques plus importantes que dans les autres régions du noyau, masses qui peuvent être simples ou formées d'éléments accolés l'un à l'autre à l'intérieur d'un filament épais [ps_1, ps_2 (Fig. 14) ps_1, ps_2, ps_3, ps_4 (Fig. 8)] ; chacun de ces éléments a la valeur d'un pseudonucléole ordinaire, car on remarque (dans la figure 14 par exemple) que chacun de ces éléments ps_1 ps_2, constituant une masse chromatique, peut, pour son propre compte, se terminer latéralement par un filament du réseau.

Toutes les apparences tendent donc à nous faire admettre l'existence d'un filament du réseau nucléaire particulièrement épais, dans lequel serait inclus le nucléole ; ce filament est-il homogène (et dans ce cas le nucléole ferait partie du réseau chromatique, ce qui est contraire à ce que l'on admet généralement, le nucléole vrai étant regardé comme indépendant du réseau nucléaire), ou bien ce filament est-il constitué en réalité par plusieurs filaments très rapprochés mais distincts, et qui ne feraient qu'enserrer entre eux le nucléole ? c'est ce qu'il nous a été impossible d'élucider; du moins

Digitized by Google

il n'y a pas de doute en ce qui concerne la valeur respective des parties que nous avons désignées sous les noms de nucléoles et de pseudonucléoles ; car si on emploie la méthode de double coloration (à la fuchsine et au bleu de méthylène) indiquée par Rosen (1), on observe que le nucléole se colore en rouge alors que les masses voisines fixent énergiquement le bleu de méthylène, comme tous les autres pseudonucléoles.

Le nucléole persiste ainsi le plus souvent au bout de 50 jours d'asphyxie ; cependant il arrive qu'au bout du même temps il cesse de garder sa forme sphérique et qu'il subisse les mêmes modifications que les pseudonucléoles, à savoir aplatissement et perte insensible de précision dans le contour ; il semble se confondre avec les masses chromatiques que nous venons de décrire comme se trouvant étroitement accolées à lui, puis celles-ci diffusent le long des filaments du réseau de cette région et bientôt on ne reconnaît plus l'emplacement antérieur du nucléole qu'à une sorte d'étoile chromatique formée par les filaments qui se trouvaient aboutir à la région nucléolaire (Fig. 16) ; mais, nous le répétons, cette disposition est exceptionnelle à la période qui nous occupe.

Structure du noyau au bout de 100 jours de fermentation ou plus. — Nous avons observé les principales modifications que subira le noyau au cours de la fermentation ; lorsque celle-ci se poursuit plus longtemps le réseau nucléaire devient presque entièrement achromatique ; c'est dans la région nucléolaire que la chromatine persiste le plus longtemps ; la masse étoilée que nous avons signalée comme exceptionnelle pour une durée de 50 jours de fermentation devient très caractéristique des derniers stades d'asphyxie, puis elle va elle-même s'atténuant, et c'est ainsi que dans des noyaux qui ont résisté pendant 100 jours à l'asphyxie elle n'est plus que très faiblement représentée (Fig. 19) ou n'existe plus du tout.

Le noyau n'est plus alors formé que d'une masse centrale transparente et d'une membrane à la surface de laquelle se trouve accolé un réseau ne fixant que très faiblement les colorants de la

(1) F. Rosen : *Beiträge zur Kentniss der Pflanzenzellen* (Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. V. p, 443). Solution aqueuse de fuchsine à 0,1 °/₀, agissant pendant 24 heures, lavage à l'eau, solution aqueuse de bleu de méthylène à 2 °/₀, agissant pendant 2 minutes, alcool absolu, xylol et baume.

Digitized by Google

chromatine ; c'est généralement cette constitution qu'offre le noyau lorsque le phénomène de la fermentation prend fin ; dans certains cas cependant les cellules ont cessé d'être vivantes alors que le noyau garde encore aux nœuds de son réseau quelques petits pseudonucléoles (Fig. 17, 18, 20) ; l'irrégularité du contour du noyau représenté par la figure 17, irrégularité déterminée par une disparition de la turgescence, suffit pour nous indiquer que nous avons bien affaire à un noyau mort, et il n'est pas nécessaire ici pour s'en convaincre d'examiner les particularités présentées par le cytoplasma.

C. — Modifications présentées par le cytoplasma pendant la fermentation propre.

Nous avons vu que le cytoplasma des cellules du parenchyme que nous envisageons est très finement granuleux et présente une apparence homogène (Fig. 1, *pr.*) ; lorsqu'on prive ces cellules d'oxygène, la modification la plus visible offerte par le cytoplasma consiste dans la formation de petites gouttelettes à son intérieur ; elles se forment très rapidement et sont déjà très nombreuses après 10 jours d'asphyxie ; leur taille, qui va d'ailleurs en augmentant légèrement avec la durée de la vie anaérobie, est en moyenne de 1 μ ; elles présentent, lorsqu'on les observe directement dans la cellule vivante, un aspect réfringent ; après fixation par le liquide de Flemming elles apparaissent presque opaques, ayant fortement réduit l'acide osmique ; par l'action de l'acide acétique ou de l'alcool absolu elles perdent leur réfringence relative et peuvent passer inaperçues ; elles se colorent en rouge par la teinture d'alkanna.

Ce sont ces gouttelettes qu'on a représentées dans les figures 20 (Pl. 10), 24 et 33 (Pl. 11), 42 (Pl. 12). On voit qu'elles sont réparties à peu près uniformément dans tout le cytoplasma et que fréquemment elles sont disposées en chapelets le long des trabécules cytoplasmiques ; c'est ce qui est particulièrement apparent dans les figures 24 et 42.

Si on les observe à un fort grossissement après fixation par le liquide de Flemming, elles n'apparaissent plus avec un contour régulier et sont comme ridées ; cette apparence, qui est bien visible dans les figures 30 et 42, nous servira, entre autres caractères,

Digitized by Google

à les distinguer d'autres productions cytoplasmiques qui nous occuperont dans la suite.

Si leur taille n'augmente guère à mesure que se prolonge l'asphyxie, leur nombre va en croissant progressivement, mais jamais on ne les voit se constituer dans le noyau ni dans les chromoleucites. La constance de ces gouttelettes, la régularité de leur taille et de leur disposition, les conditions dans lesquelles on les voit apparaître, nous donnent à penser qu'elles peuvent servir à caractériser dans une certaine mesure le phénomène de dégénérescence asphyxique.

On n'observe jamais de pareilles gouttelettes dans les cellules du fruit examiné dans les premiers mois qui suivent sa récolte, mais on peut en remarquer, bien qu'avec moins de constance, lorsqu'on s'adresse à des fruits conservés jusqu'au printemps suivant ; elles sont très vraisemblablement, dans ce dernier cas, produites par la même cause, c'est-à-dire par une asphyxie locale due à une circulation insuffisante de l'air dans la pulpe du fruit.

En outre de cette formation de gouttelettes régulières, que nous désignerons désormais sous le nom de *gouttelettes asphyxiques*, le cytoplasma, et particulièrement la portion qui se trouve dans le voisinage du noyau, présente une autre modification dans sa structure ; il acquiert peu à peu une apparence réticulée très nette, après avoir offert jusqu'alors un aspect granuleux ; le réseau qui se constitue s'observe surtout bien vers la fin du phénomène de résistance à l'asphyxie ; les mailles en sont très petites (environ 1,5 μ) par rapport à celles du réseau nucléaire (4 μ) observé à la même époque, et aux nœuds qu'il forme se trouvent condensées de petites masses de protoplasma, de telle sorte que ce réseau, à sa finesse près, a le même aspect que celui qui s'est constitué à la périphérie du noyau ; c'est d'ailleurs au niveau du noyau, dans la région où il s'accole contre ce dernier, que le réseau cytoplasmique est le plus apparent ; il semble qu'il ne forme avec celui du noyau qu'un unique réseau nucléaire ; ce n'est qu'en voyant les fines mailles cytoplasmiques se continuer en dehors du noyau qu'on reconnaît leur indépendance par rapport à ce dernier.

Quant aux leucites, ils ne subissent pas de modifications appréciables durant la vie anaérobie, lorsque les cellules, comme nous le supposons en ce moment, restent aseptiques et se trouvent dans

Digitized by Google

des conditions normales de température ; seule leur distribution se modifie et ils se rassemblent peu à peu dans le voisinage du noyau qu'ils finissent souvent par envelopper assez étroitement.

Ce groupement des leucites autour du noyau est à rapprocher d'un phénomène observé par A. Meyer (1) pour les amyloleucites, qui se réunissent autour du noyau lorsque l'amidon a été digéré ; dans les deux cas le changement dans la distribution des leucites est concomitant de la disparition d'un aliment contenu dans la cellule et provient vraisemblablement d'une répartition nouvelle du cytoplasma qui se concentre dans la région nucléaire.

D. — Variations de ces modifications avec l'état de développement du fruit. (Pl. 11, fig. 23-29).

Nous avons pris jusqu'à présent, comme objet de notre étude, des fruits adultes conservés pendant l'hiver ; des expériences relatées dans la première partie de ce travail nous ont appris que le phénomène de la résistance à l'asphyxie a lieu pour des échantillons très jeunes, mais que dans ce cas la durée en est bien moins considérable ; l'étude cytologique est en complète concordance à ce point de vue avec la marche du dégagement de gaz carbonique.

Adressons-nous, par exemple, à des fruits dont le plus grand diamètre est de 10 à 15 cm. environ ; les cellules qui constituent le parenchyme fondamental (Fig. 23) présentent un protoplasma plus abondant que précédemment, dépourvu de toute granulation apparente ; le noyau *N* a une forme ovoïde : aux angles de son réseau on distingue des pseudonucléoles très nets ; le noyau est pourvu d'un nucléole assez volumineux, relativement à celui qu'on observe dans les cellules plus âgées ; enfin toute la masse nucléaire est finement granuleuse. Le cytoplasma contient en outre de nombreux amyloleucites à l'intérieur desquels se trouvent plusieurs grains d'amidon, six environ, dont l'un est beaucoup plus volumineux que les autres ; ce n'est qu'à un fort grossissement qu'on peut distinguer ces grains d'amidon les uns des autres : à un grossissement faible ou moyen comme celui qui correspond à la figure 23, on n'aperçoit qu'une masse amylacée homogène.

(1) A. Meyer : *Das Chlorophyllkorn*, Leipzig, 1883, p. 55.

Digitized by Google

De telles cellules soumises à l'asphyxie nous présentent les mêmes modifications que précédemment, mais les différentes phases de transformation sont de plus courte durée. Considérons d'abord le noyau. Au bout de 15 jours (Fig. 24) on observe qu'il a toujours pris la forme sphérique et qu'il a sensiblement augmenté de volume. La comparaison des figures 24 et 23 semble, en ce qui concerne ce dernier point, démontrer le contraire; cela tient à ce que le noyau de la figure 24 était particulièrement petit : on observe en effet d'assez grandes variations dans la taille des noyaux et ce n'est qu'en nous appuyant sur une moyenne de nombreuses observations que nous avons pu établir le fait que nous signalons.

Le réseau nucléaire, devenu entièrement périphérique, présente des pseudonucléoles régulièrement disposés à ses nœuds : nous retrouvons ici la disposition que nous signalions précédemment vers le 50e jour d'asphyxie en ce qui concerne le nucléole et les deux gros pseudonucléoles symétriquement placés par rapport à ce dernier. Les figures 27, 28 et 29 représentent des noyaux au bout de 20 jours d'asphyxie (on y reconnaît le nucléole *n* situé à l'intérieur d'un gros filament réunissant deux gros pseudonucléoles *Ps* et *Ps'*), soit de face (Fig. 27 et 29), soit en coupe optique (Fig. 28); dans ce dernier cas on peut observer très nettement que les deux pseudonucléoles sont étroitement périphériques, que le nucléole beaucoup plus volumineux fait fortement saillie à l'intérieur du noyau, que de plus ce nucléole est contenu dans un gros filament d'apparence homogène.

Au bout de 25 jours, pour des échantillons dans lesquels le phénomène a pris fin, le noyau ne présente plus qu'un réseau avec ses pseudonucléoles, et on n'y voit généralement plus trace de nucléole ni des grosses masses chromatiques qui l'environnent; les modifications en restent là ; et pour ces jeunes cellules, on n'observe pas la disparition des îlots chromatiques nodaux, analogue à celle que nous avons signalée pour des échantillons adultes ayant fermenté 100 jours environ.

Le cytoplasma offre la même formation de gouttelettes (Fig. 24 et 25), et sa plasmolyse (Fig. 25) marque morphologiquement le terme du phénomène de la résistance à l'asphyxie. Les amyloleucites ne paraissent subir aucune modification, pas plus qu'antérieurement les chromoleucites. La nature des transformations que

Digitized by Google

subissent les cellules pendant la vie anaérobie est donc indépendante de leur état de développement ; seule la rapidité du phénomène peut varier, et paraît être en rapport avec la teneur des tissus en glucose.

E. — Influence de la température et action du liquide de contrôle sur les modifications cellulaires,

[Fig. 33-37, Pl. 11 et 41-42, Pl. 12].

Nous avons implicitement supposé dans tout ce qui précède que le phénomène de la fermentation propre se produisait à la température ordinaire des salles de laboratoire, c'est-à-dire de 15° environ; nous avons fait remarquer, d'autre part, dans la partie expérimentale de notre travail, que le phénomène cesse rapidement quand on porte les échantillons en expérience à une température sensiblement plus élevée, voisine par exemple de 30° ; il convient d'observer quelles sont les modifications qui surviennent alors dans la cellule.

Prenons par exemple un échantillon de fruit adulte resté pur, ayant fermenté pendant 35 jours à la température ordinaire, puis porté pendant 8 jours à la température de 33° ; l'aspect général offert par les cellules après la seconde période est représenté par les figures 37 et 42. Tout le protoplasma est contracté et il est visible que le phénomène de la fermentation a pris fin par suite de la mort de la cellule. Le noyau présente la structure que nous lui avons vu acquérir au bout d'un mois environ de fermentation ; réseau chromatique avec pseudonucléoles *ps* assez volumineux et filaments du réseau encore très visibles ; le cytoplasma présente les nombreuses gouttelettes régulières *g* qui se sont produites pendant la fermentation ; mais il s'est formé en plus dans tous les éléments de la cellule, cytoplasma, leucites et noyau, de nombreuses masses de nature oléagineuse, réduisant fortement l'acide osmique, colorables par la teinture d'alkanna, insolubles dans l'alcool et dans l'acide acétique, comme les gouttelettes asphyxiques.

Ces globules se distinguent aussi facilement par leur taille beaucoup plus considérable et très irrégulière, leur diamètre variant en effet, de 1 μ à 10 μ, et par leur aspect absolument homogène après fixation par le liquide de Flemming ; ils ne présentent jamais en effet

Digitized by Google

l'aspect ridé que nous avons signalé au sujet des gouttelettes asphyxiques. C'est dans le cytoplasma qu'ils apparaissent en premier lieu, puis il s'en constitue dans les chromoleucites (Fig. 41 *a* et 41 *b*); on voit en effet de tels globules se produire au sein des trabécules protoplasmiques des leucites, augmenter en nombre et en volume, et les chromoleucites arrivent assez rapidement à perdre entièrement leur structure primitive (Fig. 42 *l*) ; on n'y reconnaît bientôt plus qu'une membrane limitant une vacuole où tout le protoplasma est remplacé par un certain nombre de ces globules huileux ; c'est ce qu'on observe encore bien dans la figure 35 où deux leucites sont ainsi complètement transformés ; on est évidemment en présence d'une dégénérescence huileuse due à une température relativement élevée.

Ce processus morphologique accompagnant la mort de la cellule atteint généralement le noyau en dernier lieu, mais il n'y échappe pas, et il se constitue à son intérieur des globules huileux (Fig. 37 et 42 *Gn*) en tout semblables à ceux que nous venons de signaler pour le cytoplasma et les leucites ; dans la figure 36 on a représenté un noyau qui n'offre qu'un seul de ces globules dans sa partie centrale.

Dans certains cas cette dégénérescence huileuse est encore plus profonde, et il peut arriver que tout le protoplasma se résolve en un ensemble de globules, y compris les leucites et le noyau qui perdent toute trace de structure et dont la membrane disparaît. Toute la cellule offre alors l'aspect que présente seul le cytoplasma dans la figure 35 ; on n'y observe plus que des globules huileux devenus indépendants les uns des autres par suite de la disparition complète de cytoplasma organisé (1).

La dégénérescence huileuse que nous venons d'observer est plus rapide dans la région de l'échantillon qui baigne dans le bouillon de contrôle, et généralement on n'observe plus trace de

(1) Cette formation de globules huileux est de tout point comparable à ce qu'on observe si communément chez les animaux, soit lors de processus normaux, soit sous l'action de diverses causes agissant d'une manière défavorable sur l'organisme : pour ne prendre qu'un point de comparaison, disons que nos figures 35 et 42 sont absolument semblables au point de vue de cette dégénérescence aux figures 1 et 3 données par Sanarelli (*) dans son travail sur la fièvre jaune et représentant les altérations subies par le foie et le rein au cours de cette maladie ou par suite de l'empoisonnement phosphorique.

(*) Sanarelli : *L'immunité et la sérothérapie contre la fièvre jaune*, 2e mémoire (*Ann. Inst. Pasteur*, 1897, XI, p. 672, pl. XVIII *bis*).

Digitized by Google

protoplasma dans cette région, celui-ci étant transformé entièrement en globules huileux, alors que dans la région qui ne baigne pas dans le liquide on peut encore distinguer le cytoplasma et le noyau, dégénérés seulement en partie.

D'ailleurs, même à la température ordinaire, le bouillon produit sur les cellules qui subissent son action des modifications identiques; c'est ainsi que la figure 21 représente une portion de parenchyme vasculaire immergée dans le bouillon de contrôle, pour un échantillon qui avait résisté pendant 100 jours à l'asphyxie; dans la figure 20 on observe un noyau et des leucites du même échantillon, mais dans une région assez éloignée du liquide ; dans le premier cas on remarque de gros globules huileux à l'intérieur du cytoplasma, des leucites ou du noyau, alors que dans le second on est en présence de la structure normale d'une cellule asphyxiée; la dégénérence huileuse a surtout lieu aux environs des vaisseaux du bois, ce qui s'explique facilement par la circulation plus facile du liquide dans cette région, et pour cette même raison elle peut apparaître dans ce tissu à un niveau plus élevé que celui du liquide. Elle a également lieu à l'intérieur des tissus immergés dans le bouillon de contrôle pour des échantillons qui, laissés en relation continue avec l'air, ne présentent pas le phénomène de la résistance à l'asphyxie.

L'immersion dans le bouillon de contrôle produit donc un effet analogue à une élévation de la température, et il semble que plus généralement tout agent empêchant la cellule de fonctionner normalement, amène, à l'intérieur de celle-ci, la formation de globules huileux; c'est encore, en effet, ce que l'on constate quand on n'a pas eu soin de prélever l'échantillon sur lequel on expérimente avec un emporte-pièce refroidi. Si la lame dont on se sert pour découper vient d'être chauffée, on observe sur les préparations qui en proviennent, après asphyxie à la température ordinaire, une zone externe qui a été énergiquement fixée par la chaleur et dans laquelle apparaît la structure normale de la cellule, sans qu'il intervienne, cela va sans dire, aucune modification due au phénomène de fermentation; en dedans de cette première zone, formée par exemple par une dizaine d'assises de cellules, s'en trouve une seconde, généralement moins épaisse que la précédente, et dans laquelle on reconnaît de nombreux globules huileux: cette dégé-

Digitized by Google

nérescence qui est due à l'action d'une très haute température, inférieure cependant à celle qui détermine une fixation instantanée de la cellule, va en diminuant graduellement d'intensité de la périphérie vers le centre de l'échantillon, et, si ce dernier est suffisamment épais, on arrive à une région centrale où l'on n'observe plus que les modifications normales accompagnant le seul phénomène de fermentation.

En résumé, si au lieu de soumettre à la fermentation alcoolique un morceau de la pulpe du Potiron dans les conditions ordinaires de température, on élève cette dernière, ou si l'échantillon est immergé dans le bouillon de contrôle, ou bien encore s'il a subi dans certaines régions l'action passagère d'une chaleur assez forte, on voit se produire dans les cellules les mêmes modifications que dans les conditions normales, mais en outre on assiste à la production de globules huileux, phénomène qui nous apparaît comme un processus de dégénérescence et qui finit par masquer les transformations précédemment signalées; pour nous assurer que ces dernières sont bien liées à la fermentation propre de la cellule qui les offre, nous avons observé parallèlement les cellules d'échantillons semblables, placés dans les tubes en présence du même bouillon de contrôle, mais laissés en contact avec l'air qui pouvait se renouveler autour d'eux par le tampon d'ouate fermant le tube; dans cet air humide il ne se produit à la température ordinaire aucune modification appréciable à l'intérieur des cellules ; c'est ainsi qu'au bout de 30 jours les noyaux ont gardé les caractères qu'ils présentaient au début et qu'il ne s'est formé au sein du cytoplasma aucune gouttelette, non plus qu'aucun globule huileux; les gouttelettes dont nous avons signalé l'existence pour les échantillons subissant la fermentation propre nous paraissent donc bien liées à ce phénomène.

Si on porte des échantillons, pouvant respirer librement, à la température de 33°, on observe dans leurs cellules de nombreux globules huileux ; ceux-ci sont donc bien en rapport avec la mort de la cellule, que celle-ci soit ou non en contact avec l'oxygène de l'air ; nous venons de citer quelques-unes des causes amenant cette dégénérescence huileuse de la cellule ; nous en avons observé plusieurs autres ; c'est ainsi qu'agit encore l'oxygène de l'air

Digitized by Google

sur des échantillons qui ont résisté pendant quelque temps à l'asphyxie.

F. — Action de l'oxygène sur les cellules qui ont subi la fermentation propre (Pl. 11, fig. 38 à 40).

Nous avons observé plus haut que le retour à la vie aérobie après une période un peu longue de fermentation devient de plus en plus difficile et ne tarde pas à être suivi de la mort des cellules; c'est ce que nous indique aussi l'examen cytologique des échantillons remis en contact avec l'air après avoir fermenté. Considérons par exemple un échantillon de Potiron ayant fermenté pendant 20 jours : ses cellules offrent alors l'aspect représenté par la figure 38 ; nous y retrouvons, pour le noyau et le cytoplasma, les caractères maintenant bien connus de la fermentation propre.

Supposons qu'un échantillon semblable, ayant été privé d'oxygène pendant le même temps, soit laissé en contact avec l'air pendant 10 jours ; nous constaterons un début de dégénérescence huileuse des cellules (Fig. 39) ; on voit apparaître autour du noyau des globules huileux semblables à ceux que produit l'élévation de la température ; on observe en outre les gouttelettes asphyxiques qui s'étaient produites antérieurement dans la vie anaérobie. Au bout de ce temps la cellule n'est pas encore morte, le cytoplasma n'a pas subi le phénomène de plasmolyse. Il n'en est plus de même lorsqu'on a laissé l'échantillon au contact de l'air pendant 30 jours (Fig. 40) ; tout le protoplasma est alors rassemblé au centre de la cellule et toutes ses parties constitutives offrent un nombre considérable de globules huileux *G*.

L'oxygène produit donc sur la cellule qui a fermenté une dégénérescence rapide et les modifications morphologiques qui l'accompagnent sont celles que nous avons observées pour d'autres actions amenant de même la mort de la cellule.

G. — Action des Bactéries [Fig. 21-22 (pl. 10) et 30-32 (pl. 11)].

Jusqu'ici les échantillons de la pulpe de Potiron que nous examinions après la fermentation propre étaient choisis parmi ceux qui n'avaient pas troublé le bouillon de contrôle pendant le temps qu'ils avaient été soumis à l'expérience, et qui, à l'examen

Digitized by Google

microscopique, s'étaient de plus montrés exempts de tout microorganisme. Les modifications qu'on observe dans les cellules des échantillons envahis par des bactéries peuvent être très différentes de celles que nous avons décrites jusqu'à présent et sont d'ailleurs variables avec l'espèce bactérienne que l'on considère.

Comparons par exemple deux échantillons faisant partie d'une même série d'expériences, l'un resté pur, l'autre ayant présenté un développement assez intense de bactéries dont les colonies ont formé à la surface du Potiron ou dans le fond du liquide un dépôt blanc. Sur une coupe pratiquée dans l'échantillon resté pur au bout de 30 jours d'expérience, on retrouve les modifications habituelles (Fig. 30) ; le rassemblement des leucites autour du noyau est ici particulièrement marqué, ainsi que la forme dendritique que prennent dans les gouttelettes asphyxiques les régions réduisant l'acide osmique.

Passons à l'examen de l'échantillon qui a fermenté en présence de bactéries, celles-ci se montrant capables d'accélérer le dégagement de gaz carbonique, c'est-à-dire de produire elles-mêmes la fermentation alcoolique du glucose contenu dans les cellules de la pulpe du Potiron. Ces bactéries se développent d'abord dans les méats intercellulaires puis pénètrent dans les cellules ; elles apparaissent comme constituées par des éléments sphériques, excessivement ténus (environ 0,2 μ de diamètre) et sont le plus souvent disposées en chapelets formés de 4 à 6 cellules (Fig. 31, *b*). Dans le cytoplasma on n'aperçoit, outre ces bactéries, que les gouttelettes asphyxiques *g* provenant de la fermentation propre du Potiron ; mais celle-ci ne peut plus être décelée par les modifications que nous avons appris à connaître pour le noyau ; on observe en effet pour ce dernier une apparence toute spéciale. Il a fortement augmenté de volume, mais n'a pas pris la forme sphérique qui après 30 jours de fermentation apparaît, sans exception, dans les échantillons restés purs ; sa structure s'est profondément modifiée, mais d'une manière fort différente des cas précédents.

On ne reconnaît plus à son intérieur aucune trace de filament nucléaire et on ne distingue plus un seul pseudonucléole chromatique ; il a pris un aspect homogène dans toute sa masse et tout se passe comme si le filament chromatique s'était dissous dans le uc nucléaire ; un seul élément garde son individualité, c'est le

Digitized by Google

nucléole *n* qui a de plus augmenté de volume dans le même rapport que le noyau ; cette réaction du nucléole à l'égard des bactéries, qui apparaît comme très différente de celle des autres parties du noyau, est une nouvelle preuve que nous avons bien affaire à un nucléole vrai.

Cette manière de le distinguer est en somme du même ordre que les réactions chimiques qu'on a proposées pour définir les divers éléments constitutifs du noyau ; on sait en effet, d'après Schwarz (1), que la chromatine et la pyrénine, substances constitutives des nucléoles vrais, peuvent se distinguer par la solubilité de l'une et l'insolubilité de l'autre dans un certain nombre de réactifs; c'est ainsi que la chromatine est soluble dans une solution à 20 °/o de chlorure de sodium ou dans une solution concentrée de sulfate de magnésium, alors que la pyrénine reste insoluble dans ces deux liquides ; de même la chromatine est facilement dissoute par la trypsine qui n'agit que très difficilement sur la pyrénine. Il est naturel d'admettre que nous sommes ici en présence de phénomènes de digestion provoqués par les bactéries ; le cytoplasma et la chromatine seraient digérés alors que la substance constituant le nucléole, la pyrénine, et colle qui forme la membrane du noyau, l'amphipyrénine, résisteraient au contraire à l'action des sucs sécrétés.

La figure 32 représente une cellule de Potiron correspondant à un échantillon laissé pendant 40 jours à l'abri de l'oxygène et dans lequel s'est développé un *Micrococcus* d'une espèce différente de la précédente ; cette bactérie se propageait encore en premier lieu dans les méats intercellulaires, où elle formait de grosses zooglées arrondies, nettement séparées les unes des autres, puis pénétrait dans les cellules ; on a représenté en *b'* une des colonies formées à l'intérieur de la cellulle ; les individus qui la constituent sont encore très petits et sphériques, mais n'apparaissent plus en forme de chapelets. En dedans de la membrane cellulaire on ne trouve plus trace de cytoplasma ; le noyau a pris un contour des plus irréguliers et on ne reconnaît plus en dedans de sa membrane que le nucléole *n* qui a échappé d'une manière absolue à l'action des bactéries ; dans ce second cas de développement de microorganismes

(1) Fr. Schwarz : *Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas* (Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. V. I).

Digitized by Google

à l'intérieur des cellules, comme dans le cas précédent, nous n'avons jamais vu les bactéries pénétrer dans le noyau même ; la membrane de ce dernier permet le passage des sucs digestifs dans le noyau, tout en résistant à leur action.

H. — Essai d'interprétation des faits précédemment étudiés.

Par les différentes observations qui précèdent, nous avons pu constater que les modifications qui apparaissent dans une cellule de la pulpe de Potiron soumise à la fermentation propre se réduisent à deux principales :

1° Formation de fines gouttelettes dans le cytoplasma ;

2° Gonflement du noyau et rejet à sa périphérie de toute la partie chromatique.

Nous avons déjà dit qu'il est naturel de considérer les gouttelettes cytoplasmiques comme étroitement liées au phénomène de la fermentation propre ; ces gouttelettes ne se présentent en effet que lorsque la cellule est privée d'oxygène ; elles proviennent d'un mode d'activité très spécial du cytoplasma. Comment peut-on interpréter d'autre part les modifications présentées par le noyau ? L'augmentation de turgescence peut avoir deux causes, résidant l'une et l'autre dans le changement de composition des milieux extra- et intracellulaires.

D'une part, dans l'atmosphère, qui au début de l'expérience est constituée par de l'air normal, l'oxygène disparaît graduellement pour faire place à du gaz carbonique, puis à partir du moment où la fermentation commence, la pression relative de gaz carbonique va continuellement en augmentant. Or, dans une étude consacrée à l'action de ce gaz sur les cellules végétales, Lopriore (1) a montré que celui-ci peut augmenter la pression osmotique à l'intérieur des cellules ; c'est ainsi que des grains de pollen de *Lathyrus latifolius* ayant déjà formé leurs tubes polliniques dans une solution sucrée de concentration convenable à l'intérieur d'une chambre humide, viennent à éclater quand on fait passer pendant 5 minutes un courant de gaz carbonique. Il est aisé d'admettre que cette augmentation de turgescence, se produisant ici entre l'intérieur du tube

(1) G. Lopriore : *Ueber die Einwirkung der Kohlensäure auf das Protoplasma der lebenden Pflanzenzelle* (Jahrb. f. w. Bot., 1895, XXVIII, p. 531-628).

Digitized by Google

pollinique et l'atmosphère externe, puisse avoir lieu dans le cas du Potiron soumis à la fermentation propre, entre le noyau et le reste de la cellule. Cette turgescence, quelle qu'en soit d'ailleurs la cause, est assez considérable pour produire dans quelques cas, du reste peu fréquents, une sorte de hernie de la membrane faisant assez fortement saillie par rapport au reste du contour nucléaire ; cette hernie de la membrane apparaît absolument transparente, ne contenant pas d'élément chromatique.

D'autre part, les milieux liquides contenus dans la cellule changent graduellement de composition au cours de la fermentation propre ; le glucose est remplacé insensiblement par de l'alcool ; l'équilibre osmotique existant au début entre le noyau et les liquides qui l'environnent est ainsi rompu, et si le changement de composition des liquides est tel qu'il entre dans le noyau plus de liquide qu'il n'en sort, il en résultera un gonflement du noyau analogue à celui que nous avons observé.

L'augmentation de turgescence du noyau peut donc s'expliquer à la fois par le dégagement de gaz carbonique ou par les modifications que subissent les liquides cellulaires. Quant au rejet à la périphérie de tout le réseau nucléaire, il nous semble qu'on peut, pour l'expliquer, admettre une séparation s'effectuant, précisément par suite des modifications osmotiques, entre la partie chromatique et le reste du noyau, c'est-à-dire un phénomène tout à fait comparable à celui que nous avons précédemment observé dans les cellules soumises à la dessiccation ou au gel (1).

Afin de comparer les modifications du réseau chromatique dans les deux cas, nous avons abandonné des morceaux de Potiron découpés aseptiquement et placés dans de larges tubes stérilisés fermés par un tampon d'ouate, à une dessiccation lente ; nous avons observé, après 40 jours par exemple, alors que les morceaux de Potiron avaient déjà très sensiblement diminué de volume et pris dans leur partie externe la consistance du cuir, des modifications rappelant de tous points celles qui ont fait pour d'autres tissus l'objet du précédent travail ; le cytoplasma, les leucites (Fig. 43 et 44, *vp*) ainsi que le noyau (Fig. 44, *vn*) étaient très vacuolisés ; on n'observait pas trace de gouttelettes asphyxiques dans le cyto-

(1) Matruchot et Molliard : *Modifications de structure produites par le gel des cellules végétales*. (Rev. gén. de Bot., t. XIV, 1902.)

Digitized by Google

plasma; le noyau, bien que devenu plus petit, avait acquis un contour régulier le plus souvent sphérique (Fig. 45-47) et son réseau présentait une disposition périphérique, qui avait été atteinte graduellement, et qui rappelle absolument ce que nous venons d'observer pour les noyaux des cellules asphyxiées; les seules différences qu'on puisse signaler consistent en ce que, dans le noyau des cellules qui ont perdu beaucoup d'eau, le réseau est moins régulier que dans le cas de la fermentation propre; de plus la chromatine, dont la masse ne va pas ici en s'affaiblissant insensiblement, se rassemble d'une manière moins nette aux nœuds du réseau; elle constitue des épaississements assez irréguliers le long de certains filaments de ce dernier (Fig. 45 et 46 *ch*).

Dans plusieurs noyaux desséchés on observe (Fig. 47) la disposition du nucléole *n* et de deux pseudonucléoles voisins *Ps Ps'* qui était si caractéristique d'un stade moyen dans le cas de la résistance à l'asphyxie, ce qui nous montre encore que dans les deux cas on se trouve bien en présence d'un mécanisme analogue : or la manière dont agit la dessiccation est relativement facile à comprendre et permet ainsi de rapporter à des phénomènes d'osmose les modifications présentées par le noyau dans les cellules asphyxiées.

En résumé, la production des gouttelettes fines et régulières nous apparaît comme intimement liée à l'existence de la fermentation propre, ce sont pour nous deux phénomènes concomitants; le gonflement du noyau et le rejet de son réseau à la périphérie nous semblent être au contraire des modifications secondaires provenant de ce que les divers milieux constitutifs de la cellule ont changé de composition chimique

Quant à l'atténuation graduelle de la chromatine, elle a lieu dans toutes les cellules vieillissant d'une manière normale ; elle est ici simplement plus rapide, la cellule étant le siège d'un travail particulièrement intense.

(A suivre).

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX
DE PHYSIOLOGIE ET DE CHIMIE
VÉGÉTALES

PARUS DE 1893 à 1900 (*Fin*)

Palladine (1) a essayé de montrer en quoi la *respiration des plantes étiolées dépend des hydrates de carbone*. Borodine avait déjà fait voir que l'intensité respiratoire des tiges feuillées, placées dans un lieu obscur, s'affaiblit graduellement à cause de la diminution des matières hydrocarbonées. Selon Palladine, l'activité respiratoire des feuilles de Fève étiolées et vertes augmente considérablement après l'introduction artificielle de sucre dans leurs tissus. Le rapport de la quantité de l'acide carbonique émis par les feuilles étiolées de Fève, cultivées dans la solution de sucre, à la quantité de l'acide carbonique émis par les feuilles étiolées venant d'être coupées est par conséquent plus grand que l'unité : il est égal à 1.6. Ce rapport est de 1.7 pour les feuilles vertes. Quant au quotient respiratoire $\frac{CO^2}{O}$ il reste constant pour les feuilles étiolées lorsqu'on leur fournit du sucre.

Toutefois l'activité respiratoire ne dépend pas de la quantité absolue des hydrates de carbone. Ces hydrates, fournis en grande abondance, forment des réserves qui règlent non l'intensité du travail respiratoire, mais sa continuité.

A ce point de vue, les feuilles peuvent être divisées en deux groupes. On peut en effet distinguer les feuilles des plantes étiolées dépourvues d'entre-nœuds et celles qui sont à entre-nœuds développés ; les premières sont beaucoup plus riches en glucose et par conséquent respirent plus énergiquement. Ces feuilles sont toujours bien développées (Blé) ; les autres, au contraire le sont très peu (Fève).

Enfin, à quantité égale de matières protéiques, en présence d'hydrates de carbone, les feuilles vertes et les feuilles étiolées dégagent un même volume d'acide carbonique. Les matières protéiques qui se sont formées à la lumière ne se distinguent donc pas par une activité plus grande de celles qui se sont formées à l'obscurité. La lumière est nécessaire aux plantes vertes parce qu'elle crée les conditions favorables grâce auxquelles les matières protéiques existant dans ces plantes peuvent développer la plus grande activité, c'est-à-dire qu'elle donne de l'eau, des

Digitized by Google

substances minérales, des hydrates de carbone, mais elle n'a aucune action sur les matières protéiques elles-mêmes.

Si telle est l'influence des *hydrates de carbone* sur la respiration normale, que devient cette influence sur la *respiration intra-moléculaire*?

Palladine (1) a constaté que la quantité d'acide carbonique émise par les feuilles étiolées dans une atmosphère privée d'oxygène, dépend aussi de leur richesse en matières hydrocarbonées. Ce résultat est conforme avec celui qui a été obtenu autrefois par Diakonon sur les Champignons.

Le même auteur (2), revenant plus tard sur les recherches qui précèdent, montre que pour une température donnée et avec une quantité suffisante d'hydrates de carbone, le rapport entre la quantité d'acide carbonique dégagé par diverses plantes dans l'unité du temps et la quantité d'*azote non digestible* est une constante.

Cette loi, que l'auteur reconnaît être encore un peu hypothétique, présenterait une nouvelle preuve de l'unité de la substance vivante des plantes. On pourrait dire alors que le protoplasma possède dans toutes les plantes la même énergie ; cette énergie constante serait une nouvelle propriété générale de la matière vivante.

Mais le dégagement de l'acide carbonique et la vitesse de croissance pendant la germination sont deux phénomènes qui se produisent en même temps et dans la même direction, sans toutefois être liés l'un à l'autre comme une cause l'est à son effet.

Les diverses fonctions des plantes sont susceptibles d'être influencées par les actions externes, l'électricité en particulier. Depuis longtemps déjà on a entrepris, à la suite de Nollet, des expériences d'*électroculture* qui ont démontré que l'électricité a une influence bienfaisante sur la végétation. Mais la question avait été jusqu'ici abordée dans son ensemble, et sa complexité même explique pourquoi les résultats obtenus ont été très souvent contradictoires. Les phénomènes de la vie doivent en effet être étudiés séparément, chacun d'eux ayant son optimum spécial d'activité eu égard à une cause externe donnée.

Thouvenin (3) s'est précisément proposé de rechercher quelle est *l'influence des courants continus sur les échanges gazeux des plantes aquatiques*. Il a trouvé que cette influence est favorable à l'assimilation du carbone en accélérant la décomposition du gaz carbonique. Toutefois cet expérimentateur fait observer qu'il n'a pas déterminé l'optimum de cette action, se réservant d'en faire plus tard l'objet d'une étude spéciale.

On trouve, chez les Muscinées, de très grandes différences dans l'in-

(1) Palladine : *Recherches sur la respiration des feuilles vertes et des feuilles étiolées*. (Revue générale de Botanique, VI. 201). 1894

(2) *Sur le rôle des hydrates de carbone dans la résistance à l'asphyxie chez les plantes supérieures*. (Revue générale de Botanique, VI. 201). 1894.

(3) Palladine : *Recherches sur la corrélation entre la respiration des plantes et les substances azotées actives*. (Revue générale de Botanique, VIII. 225).

Digitized by Google

tensité de la respiration et de l'assimilation chlorophyllienne. Selon Jönssen (1), les diverses espèces dégagent à l'obscurité dans le même temps, par gramme de poids sec, des quantités d'acide carbonique très différentes.

Le contenu des Muscinées en eau est une cause très importante de variations : plus la proportion d'eau est considérable, plus les échanges gazeux sont intenses.

Les échantillons d'une même espèce, choisis dans un lieu très humide, émettent plus de gaz que des échantillons de la même espèce cueillis en terrain sec.

La coloration rougeâtre de beaucoup de Mousses, très accentuée surtout quand les plantes se sont développées à la lumière, a pour effet de ralentir beaucoup l'intensité de la respiration et de l'assimilation. Ce dernier résultat paraît contradictoire avec ceux qui ont été indiqués plus haut touchant les végétaux supérieurs à feuilles rouges ; en effet, ici, c'est la membrane qui est colorée en rouge et le contenu protoplasmique est lui-même modifié.

Nous avons déjà dit, en ce qui concerne le mécanisme de la production du gaz carbonique chez les plantes, que selon *Maquenne* (2), la respiration semble être le résultat de la combustion lente d'un principe éminemment oxydable, que la cellule vivante sécrète constamment à l'abri de la lumière, et qui est susceptible de s'y accumuler quand l'oxygène fait défaut dans l'atmosphère ambiante.

A ce sujet *Berthelot* et *André* (3) rappelant que les feuilles de diverses plantes, chauffées entre 100° et 110° dans un courant d'hydrogène, dégagent une certaine proportion de CO^2 qui s'élève jusqu'à 0,73. Ce dégagement est indépendant des phénomènes biologiques, en raison de la température à laquelle il s'accomplit. Il est également indépendant de la présence de l'oxygène et démontre l'existence dans les feuilles de principes immédiats susceptibles de se décomposer facilement en produisant de l'acide carbonique.

Si l'on répète les expériences en présence de l'air, c'est-à-dire de l'oxygène, toujours entre 100° et 110°, on obtient des doses de CO^2 qui s'élèvent jusqu'au double de celles obtenues précédemment : phénomène qui démontre l'existence dans les feuilles de principes oxydables, susceptibles d'être altérés par l'air, avec formation propre d'acide carbonique, correspondante à cette nouvelle réaction.

Le rapport entre l'acide carbonique produit et l'oxygène absorbé est constamment plus petit que 1 et peut même s'abaisser à 1/2 et à 1/3. Ce fait atteste encore l'existence de matières très oxydables dans les

(1) Jönssen : *Recherches sur la respiration et l'assimilation des Muscinées.* (CR. CXIX. 440) 1894.

(2) Maquenne. Loc. cit.

(3) Berthelot et André : *Sur l'existence, dans les végétaux, de principes dédoublables avec production d'acide carbonique.* (CR. CXIX. 711) 1894.

Digitized by Google

feuilles, les produits étant susceptibles de s'accumuler dans certaines conditions, indépendamment de l'acide carbonique exhalé parce que l'absorption de l'oxygène et la génération du gaz carbonique ne sont pas liées chez les végétaux supérieurs par un oxyde semblable à celui qui caractérise les animaux supérieurs, et tel que l'être vivant reprenne un état final sensiblement identique à son état initial.

C'est sur la formation purement chimique de l'acide carbonique, par suite de dédoublement de certains principes immédiats, que roulent les nouvelles expériences des auteurs.

Des feuilles de Lierre séchées à l'étuve à 110 degrés, puis réduites en poudre fine et chauffées au bain d'huile à 120 ou 130 degrés, avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 12 centièmes et dans une atmosphère d'hydrogène, donnent naissance à du purpurol, à des acides humiques et à un courant continu de gaz carbonique.

Or en remplaçant des feuilles par du sucre de canne on obtient les mêmes résultats.

Lorsque l'atmosphère dans laquelle végètent les plantes est viciée par l'acide carbonique, les fonctions physiologiques essentielles subissent des perturbations qui peuvent devenir mortelles.

Mangin (1) a montré que dans certaines régions, l'air qui existe au pied des arbres renferme une quantité considérable de gaz carbonique (de 4 à 24 pour 100); quant à l'oxygène il descend à 13 ou 14 pour 100 et même parfois jusqu'à 3 pour 100; en un point des plantations de Paris, l'oxygène manquait dans le sol à 1 m. 50 du pied d'un arbre. De telles atmosphères internes nuisent beaucoup au développement des arbres de nos boulevards.

Or De Saussure, Bœhm, Jentys ont déjà mis en évidence l'influence nocive de l'acide carbonique, mais ils n'ont pas tenu compte de la diminution de pression de l'oxygène; aussi l'auteur a-t-il pensé que de nouvelles recherches sur ce sujet n'étaient pas inutiles.

Il a utilisé la respiration des sujets en expérience pour modifier la composition de l'air au moyen d'un dispositif analogue à celui que Brown-Séquard et d'Arsonval ont employé dans leurs recherches sur la toxicité de l'air expiré par les animaux.

En opérant sur des graines ou des tubercules on constate qu'avec le passage de la vie ralentie à la vie active, l'accumulation de l'acide carbonique et l'appauvrissement en oxygène provoquent, toutes choses égales d'ailleurs, une diminution de l'activité respiratoire. Ce fait a pour conséquence un ralentissement notable de la croissance ainsi que l'avaient déjà observé Bœhm et Jentys.

En outre, dans une atmosphère viciée, la nature des phénomènes d'oxydation est changée car le rapport $\frac{10^2}{0}$ augmente chez les indi-

(1) L. Mangin : *Sur la végétation dans une atmosphère viciée par la respiration.* (CR. CXXII. 747) 1896.

Digitized by Google

vidus qui séjournent dans l'air enrichi en acide carbonique, appauvri en oxygène. Ce sont les graines oléagineuses qui fournissent l'écart le plus grand.

Les recherches de GERBER (1) sur la maturation des fruits l'ont amené à étudier l'influence de la température et de l'aliment sur le quotient respiratoire des Moisissures. On se rappelle que l'auteur avait constaté que le quotient respiratoire des fruits non acides et de ceux qui ont perdu leur acidité avec les progrès de la maturation est inférieur à l'unité quelle que soit la température à laquelle on les soumette. Il en est de même des fruits contenant des acides, tant que la température est inférieure à une certaine limite, variable avec l'acide, au-dessus de laquelle la quantité de gaz carbonique dégagé pendant leur respiration devient supérieure à la quantité d'oxygène absorbé.

Mais comme les acides sont accompagnés, dans les fruits, d'un nombre considérable d'autres substances, il ne nous est pas permis d'affirmer que ces deux phénomènes simultanés (présence des acides et élévation du quotient respiratoire) soient corrélatifs et dépendent étroitement l'un de l'autre. Pour établir cette dépendance, l'auteur a essayé de séparer l'action de l'acide de celle des autres substances dans le phénomène respiratoire. A cet effet il a cherché à réduire au minimum la substance vivante afin d'introduire le moins possible d'éléments étrangers et de se placer dans les conditions d'une réaction chimique simple.

Des spores de *Sterigmatocystis nigra* ont été ensemencées sur du liquide Raulin dans lequel la substance organique n'était constituée que par des acides tartrique, citrique, malique ou par des mélanges de chacun de ces acides et de saccharose dans les proportions où les acides et les sucres se rencontrent dans les fruits.

Or, dans le cas des acides seuls, à 33°, le quotient respiratoire a été de 1,68 pour l'acide citrique, 1,76 pour l'acide malique, 2,47 pour l'acide tartrique. A 10°, ce quotient devient inférieur à l'unité. A 33°, avec 1 d'acide et 4 de sucre, on obtient un chiffre supérieur à l'unité, mais pourtant très voisin.

Le parallélisme absolu ainsi établi entre la respiration des Moisissures et celle des fruits, leurs variations identiques avec la nature de l'aliment et la température permettent de reporter dans les fruits, les résultats chimiques observés pour les Moisissures, et d'attribuer aux acides le quotient respiratoire plus grand que l'unité.

Rappelons en passant que le même auteur (2) a été amené à distinguer des *quotients d'acides*, dus à la présence des acides et des *quotients de fermentation* dus à l'insuffisance de la quantité d'air qui

(1) Gerber : *Influence de la température et de l'aliment sur le quotient respiratoire des Moisissures.* (CR. CXXIV. 162) 1897.

(2) Gerber : *Étude comparée des quotients d'acides et des quotients de fermentation observés pendant la maturation des fruits.* (CR. CXXIV. 1160) 1897.

Digitized by Google

parvient aux cellules et à la production d'alcool qui en est la conséquence. Les quotients d'acides, dont nous avons parlé plus haut se présentent toutes les fois que les fruits qui contiennent des acides se trouvent à une température supérieure à un certain degré. Ces quotients se rencontrent également chez les plantes grasses.

Quant aux quotients de fermentation ils sont, comme nous l'avons dit, en rapport avec le manque d'oxygène. Or, ce dernier phénomène est dû à la formation de pectine ; cette formation est accompagnée d'une augmentation de l'activité cellulaire ; en outre elle détermine une diminution dans l'apport de l'oxygène aux cellules par suite de l'occlusion des méats due au gonflement de la pectine.

Le quotient de fermentation diffère du quotient d'acides par une série de points. Ainsi il se manifeste à la fin de la maturation tandis que le quotient d'acides apparaît au début. On l'observe aux basses températures, même à 0, alors que l'autre n'apparaît guère qu'à 25 ou 30 degrés.

Il est souvent supérieur à 3, le quotient d'acides étant généralement plus petit que 1,50.

L'intensité respiratoire correspondant au quotient de fermentation est bien moins forte qu'avant l'apparition de ce quotient ; or c'est précisément l'inverse qui a lieu avec le quotient d'acides.

Le sectionnement élève considérablement le quotient d'acides et augmente beaucoup l'intensité respiratoire correspondante.

Enfin, chaque fois que l'on observe le quotient de fermentation, les substances sucrées des fruits se transforment partiellement en acides volatils ; il en résulte des éthers qui constituent le parfum de ces fruits.

Chaque fois que l'on observe le quotient d'acides, les acides des fruits se transforment partiellement en hydrates de carbone.

De Saussure et Garreau ont constaté que le dégagement d'acide carbonique par la respiration augmente avec la température. De Fauconpret a même donné la loi de ces variations d'intensité qui peuvent être représentées par une courbe parabolique.

Mais cette loi ne vaut, d'après Palladine (1), que pour des plantes qui ont vécu antérieurement aux mêmes températures.

Ainsi l'alternance des températures extrêmes provoque un accroissement très notable de l'énergie respiratoire.

De Chudiakow (2) a étudié la respiration intramoléculaire des graines gonflées et de diverses plantules. Il n'y a pas d'optimum de température ou plutôt cet optimum est placé, comme pour la respiration normale au voisinage de la température mortelle. Le rapport entre la respiration moléculaire et la respiration normale est indépendant de la température. La mort, chez les plantes qui végètent sans oxygène, est

(1) W. Palladine : *Modifications de la respiration des végétaux à la suite des alternances de température.* (CR. CXXVIII. 1410) 1899.

(2) De Chudiakow : Landwirth. Iahrb. XXIII. 333. 1894.

Digitized by Google

due, d'une part à l'épuisement des réserves, d'autre part à l'accumulation des produits de dédoublement du sucre; elle survient d'autant plus vite que la température est plus élevée.

Ziegenbein (1) est revenu sur la question de savoir si les plantes peuvent respirer à 0°. On sait par les expériences de Jumelle, parues dans cette Revue, que les Lichens respirent et assimilent, surtout à une température très basse. Kreussler a montré que des bourgeons de *Rubus*, des feuilles de *Phaseolus*, de *Ricinus*, de *Prunus* respirent à 0. L'auteur a opéré sur des germinations de Lupin et de Blé et il a constaté que 100 grammes de germinations de Lupin dégagent par heure 5^{mgr} 78 de CO^2 à 2°; 100 grammes de germinations de Blé en dégagent 7^{mgr} 96.

On doit à Devaux (2) une importante contribution à l'étude anatomique et physiologique des *lenticelles*.

Ces organes sont généralement poreux. Toutefois une fermeture complète peut exister et cela aussi bien à toute époque de l'année qu'en hiver seulement.

Dans tous les cas, les couches subériflées sont moins poreuses que les couches phellodermiques. Il en résulte que la lenticelle est toujours plus ou moins fermée par une ou plusieurs couches de cellules subériflées à méats petits ou bien sans méats communiquant entre eux.

Le degré de porosité varie avec la saison et avec les conditions extérieures.

Si l'on place une lenticelle dans l'eau ou dans l'air humide, on constate qu'elle s'hypertrophie. De Bary avait déjà constaté ce phénomène qu'il attribuait à l'hygroscopicité de la lenticelle. L'eau qui afflue dans la lenticelle semble venir de l'intérieur de la plante.

L'hypertrophie observée porte exclusivement sur les cellules de la couche génératrice et du phelloderme et elle est accompagnée d'un déplacement de cette assise vers l'intérieur. C'est du reste ce qui se produit de temps à autre avec les lenticelles aériennes.

En ménageant la transpiration propre des lenticelles, on peut obtenir à volonté les diverses phases de leur évolution; on peut transformer une lenticelle aquatique en lenticelle aérienne et réciproquement.

L'humidité interne joue aussi un rôle dans le développement des lenticelles. En effet le développement propre de chaque lenticelle est en corrélation avec le nombre des stomates ou des lenticelles que porte la tige, avec le développement des surfaces foliaires, avec l'existence de la chlorophylle, avec l'humidité du milieu et la saison.

D'autre part les cellules de la lenticelle paraissent toujours riches en substances osmotiques, ce qui permet d'attirer l'eau des tissus voisins. C'est par cette richesse osmotique particulière que l'on peut expliquer la puissance de prolifération et d'hypertrophie de ses cellules. L'existence et la structure des simples ébauches herbacées s'expliqueraient

(1) Ziegenbein : Naturw. Wochenschrift. 1896. N° 9.

(2) Devaux : *Recherches sur les lenticelles*. (Ann. Sc. nat. XII.1900).

Digitized by Google

par une richesse osmotique moindre que dans les cellules ordinaires.

L'apparition et la réapparition des lenticelles aux places où elles étaient disparues indique que ces organes sont déterminés à naître par leur situation.

Grâce à leur porosité, les lenticelles servent dans une mesure plus ou moins grande aux échanges gazeux.

Toutefois il faut remarquer que bien souvent elles sont absentes ou indifférentes. De plus la plante possède assez souvent des plages poreuses différentes des lenticelles et servant néanmoins à l'aération. Enfin l'expérience montre que l'ouverture et la fermeture des lenticelles ne sont pas provoquées par les besoins d'aération.

C'est par les lenticelles que s'opère une grande partie de la transpiration des rameaux et des tiges.

Les lenticelles s'ouvrent quand elles gagnent beaucoup d'eau ou qu'elles en perdent peu ; elles se ferment dans les cas contraires. Ce sont donc des ouvertures automatiquement réglées qui maintiennent l'hydrose intérieure de la tige à un niveau particulier.

La respiration est aussi favorisée par les lenticelles. L'auteur a montré que souvent les neuf dixièmes des échanges respiratoires s'effectuent par elles. Aussi, en été, alors que l'excès de transpiration ferme les organes, les tissus épais sous-jacents sont en état d'asphyxie d'autant que l'élévation de température exalte la formation de gaz carbonique.

La transpiration joue, comme on sait, un rôle considérable dans l'ascension de la sève. H. Lecomte (1) a eu l'occasion, lors de son voyage au Congo, de mesurer quantitativement le liquide absorbé dans le sol par un tronc d'arbre, en debors de toute évaporation par les feuilles. L'auteur a opéré sur le *Musanga Smithii*, de la tribu des Conocéphalées, famille des Urticacées, dont les troncs coupés récemment ou même depuis longtemps laissent dégoutter de l'eau en assez grande quantité. Or un tronc coupé à 1 m. 10 au-dessus du sol et ayant 0 m. 45 de diamètre moyen a laissé exsuder, suivant la période du jour, 0 lit. 711 par heure, 0,587, 0,360.

Müller-Thurgan (2) s'est préoccupé des relations qui existent entre la capacité transpiratoire propre des feuilles d'une plante et les conditions climatériques qui influent sur la transpiration dans un milieu donné. L'étude préalable de cette dernière fonction faite sur les végétaux que l'on veut introduire dans une contrée donnerait, pense l'auteur, d'utiles indications sur la possibilité de les cultiver. Bien des insuccès dont on cherchait vainement la cause trouvent en somme leur explication dans la rupture de l'équilibre entre la transpiration et l'absorption.

Heinrich (3) a étudié les relations entre la transpiration des plantes

(1) H. Lecomte : *Sur la mesure de l'absorption de l'eau par les racines.* (CR. CXIX. 181) 1894.

(2) Muller-Thurgan : Weinban und Weinhandel. 1893. Nos 5 et 6.

(3) Heinrich : Zweiter Ber. Land. Vers. Stat. Rostock. 1895. p. 170.

Digitized by Google

et la concentration des solutions nutritives. L'auteur a opéré sur une solution de cinq sels. En faisant varier la concentration de 3 p. 100 à 0,1 p. 100, la quantité d'eau évaporée pour 1 gramme de matière sèche formée a varié entre 515 grammes et 629 grammes. Ce résultat est conforme à celui qui a été obtenu autrefois par Hellriegel ; cet auteur avait en effet constaté que pour former 1 gramme de matière sèche, l'orge transpirait de 250 grammes à 800 grammes suivant la quantité d'azotate de chaux donnée comme engrais.

Dans des expériences faites récemment, Pagnoul (1) a constaté que 1 gramme d'azote fixé par la plante Fétuque des prés correspond à 46 kilogrammes d'eau évaporée dans une terre pauvre et seulement à 1 kilogramme dans une terre enrichie en engrais. De plus, pour un même poids de récolte, le développement des racines est beaucoup plus considérable sur la terre pauvre que sur la terre riche. L'auteur pense que les organes souterrains de la plante doivent acquérir plus de développement en milieu pauvre afin de pouvoir satisfaire aux exigences de la partie aérienne, ce qui peut expliquer la plus grande consommation d'eau.

VI. — Le Développement.

De nombreux travaux ont été effectués dans ces derniers temps sur les phénomènes physiologiques du développement et notamment de la germination des graines. Nous dirons aussi quelques mots de la germination des bulbes et des tubercules et même des spores.

Gain (2) a repris la question de la durée de la *faculté germinative* chez les graines de Céréales ; il a constaté que des graines authentiques provenant des hypogées de l'Egypte sont réellement incapables de germer. Les réserves de ces graines sont chimiquement encore utilisables ; mais l'embryon a subi des modifications profondes qui ont amené chez lui, depuis longtemps, la mort définitive. Si des voyageurs ont pu faire germer des blés de momie cela tient à ce qu'ils avaient été trompés par les fellahs qui, pour se procurer de faciles bénéfices, n'hésitent point à vendre aux touristes amateurs des blés récents.

La faculté germinative peut néanmoins se conserver pendant un grand nombre d'années si l'on a soin de bien les dessécher préalablement. Bien plus, une fois sèches, elles sont susceptibles de supporter des températures assez élevées sans périr ; Edwards et Colin, Doyère, Kellermann l'ont montré. Doyère desséchait ses graines à l'aide du vide sec et constatait qu'on pouvait les chauffer impunément à 100° ; à cette température, toutes les larves de l'alucite des Céréales étaient tuées, mais le pouvoir germinatif n'était pas atteint. Jodin (3), a fait voir

(1) Pagnoul : *Essais relatifs à la transpiration des plantes.* (Ann. agron. I. 25. p. 27) 1899.
(2) Gain (CR. CXXX ; 1643).
(3) Jodin (CR. CXXIX ; 893).

Digitized by Google

qu'on peut se passer de l'emploi du vide, si l'on a soin de dessécher progressivement les graines à des températures modérées.

Si telle est l'action de la sécheresse sur la conservation du pouvoir germinatif, comment se comportent à ce point de vue les graines placées dans l'eau? Selon Coupin (1), les graines mises dans l'eau confinée ou régulièrement renouvelée se comportent de la même façon ou bien différemment suivant les espèces. Ainsi la mort arrive au bout du même nombre de jours dans les deux cas pour le Pavot et le Lin. Certaines graines résistent mieux dans l'eau renouvelée (Moutarde, Millet, Betterave). D'autres, enfin vivent, plus longtemps dans l'eau confinée (Mauve Blé, Asperge). L'immersion dans l'eau confinée, même pendant un temps assez court, diminue le pouvoir germinatif; certaines graines subissent aussi de ce fait un retard dans leur développement. Le Lupin peut cependant rester pendant dix jours dans l'eau renouvelée sans perdre son pouvoir germinatif.

Quand les graines sont mises à germer, elles absorbent l'eau à l'état de vapeur ou à l'état liquide selon le milieu dans lequel elles sont placées. C'est ce qu'on nomme le *pouvoir absorbant*. Ce dernier varie avec la taille des graines, la nature et la densité des réserves. On le mesure généralement par la quantité d'eau absorbée par 100 grammes de graines mûres et sèches. Ce pouvoir est peu élevé pour les graines riches en amidon (47 pour le Blé, 38 pour le Maïs), mais il l'est au contraire beaucoup chez les graines riches en aleurone (110 pour le Haricot, 125 pour le Lupin). Les matières albuminoïdes retiennent en effet beaucoup d'eau, l'amidon et les corps gras en fixent au contraire très peu.

Coupin (2) a montré qu'en se gonflant par l'eau, les graines se plissent ou ne se plissent pas, suivant les espèces. Les graines plongées dans l'eau ne se dilatent pas également dans tous les sens. Elles contiennent de l'eau libre qui n'appartient ni aux téguments ni à l'amande. Cette eau représente de $\frac{1}{30}$ à $\frac{1}{8}$ de l'eau absorbée; la proportion en est maximum au moment de la saturation. Elle est considérable chez les graines endormies par les anesthésiques. Les graines endormies absorbent autant d'eau que les autres.

L'augmentation de pression retarde notablement la pénétration de l'eau. La température n'influe pas sur la quantité totale d'eau qui entre, mais sur la vitesse de cette entrée.

L'eau entre très vite par les téguments minces, beaucoup plus vite s'il y a une blessure.

Les graines plongées dans l'eau par une large surface s'imbibent très bien, mais il n'en est plus ainsi quand on les plonge seulement par une surface très restreinte; la germination même ne peut s'opérer.

(1) Coupin (CR. CXXVI; 1365).

(2) Coupin : *Recherches sur l'absorption et le rejet de l'eau par les graines.* (Thèse de Doctorat. Paris; 1896).

Digitized by Google

La vapeur d'eau est aussi absorbée, mais l'embryon en absorbe plus que le tégument.

Ce n'est pas l'augmentation de volume de l'amande qui produit la déhiscence du tégument. De plus, la radicule, par la simple force qu'elle développe en croissant, est incapable de percer le tégument ; il est probable qu'elle sécrète une diastase qui dissocie les cellules.

Le même auteur montre en outre que dans une graine plongée dans l'eau, le volume total n'est jamais égal à la somme des volumes de la graine sèche et de l'eau absorbée. Il y a dilatation, puis contraction, chez toutes les graines à téguments minces et qui se plissent. Il y a contraction chez les graines à téguments durs, les graines à téguments adhérents à l'amande, les graines blessées.

La contraction est due à la diminution de volume qui accompagne les combinaisons chimiques des matières de réserve avec l'eau. La dilatation est produite par l'imbibition rapide des téguments qui se plissent et s'éloignent de l'amande.

Le volume total des graines et de l'eau est soumis pendant la durée du gonflement à des changements de pression, d'ailleurs assez faibles. Il y a d'abord augmentation de pression, puis dépression avec des graines qui se plissent. Il y a dès le début dépression avec les graines qui ne se plissent pas.

Coupin s'est aussi préoccupé, après Leclerc du Sablon, Gréhant et Regnard, de cette question de la pression exercée par les graines qui se gonflent. Or, il ne faut pas confondre la pression du volume total des graines et de l'eau avec la compression énergique qui se manifeste au milieu des graines entassées et qu'on met à profit par exemple pour désarticuler un crâne. Regnard a bien fait observer que ce qui augmente, ce n'est pas la pression intérieure dans le crâne ou le récipient contenant les graines, c'est une simple compression locale qui se produit sur les parois. « Supposons, dit-il, que dans une chambre, une barre de fer se trouve tendue entre les deux murs. Supposons que cette barre s'échauffe, elle augmente de longueur, elle presse sur un point limité des murs, elle pourrait le renverser. Si entre le mur et le bout de cette barre on met une ampoule de caoutchouc pleine de mercure, la barre pressera sur le mercure et le fera monter à une grande hauteur. Pourtant on ne pourra pas dire qu'il y ait eu augmentation de pression dans la chambre. » Coupin a expérimentalement étendu cette comparaison aux graines mêmes.

Maquenne (1) a déterminé la pression osmotique qui se produit dans les graines mûres en employant la méthode cryoscopique de Raoult. Il a trouvé que la pression osmotique développée dans les Lupins blancs, après 10 jours de germination, était égale à 6 at. 4 ; dans les Lentilles, après le même temps, à 7 at., et dans les Pois de Clamart à 9 at. 8. Ces pressions ne se manifestent plus quand on soumet les

(1) Maquenne. (Ann. agr., XXII, p. 5, et Ch. CXXIII, p. 898).

Digitized by Google

graines à l'action des antiseptiques tels que le sublimé, qui enlèvent aux membranes plasmiques et au protoplasma leurs caractères de membrane semi-perméable.

Rien d'intéressant à signaler en ce qui concerne l'influence de la *lumière* sur la germination. Cette question mériterait d'être abordée de nouveau.

Signalons, en ce qui concerne l'action de l'*oxygène*, un travail de Mangin (1) d'après lequel les graines placées dans une atmosphère riche en acide carbonique consomment peu d'oxygène, et un mémoire de Mazé (2) sur la germination au sein de l'eau. Cet auteur a opéré en milieu stérilisé afin de se mettre à l'abri du rôle perturbateur des microbes qui peuvent accumuler des toxines en milieu confiné. Il a observé que, dans ce cas encore, la germination se produit très rarement. L'oxygène dissous est incapable de subvenir aux besoins de la germination ; si toutefois les petites graines peuvent germer dans l'eau distillée, c'est qu'elles constituent une sorte d'atmosphère interne, ce qui tend à montrer que l'oxygène libre seul peut circuler assez rapidement dans les tissus profonds pour empêcher leur asphyxie; la vitesse de dissolution de l'oxygène n'est pas assez grande pour alimenter un grand nombre de graines dans un petit volume de liquide ou des graines très grosses dans un volume d'eau quelconque. Les graines submergées sont soumises par suite à une *asphyxie lente* ; de plus les hydrates de carbone de ces graines forment, dans ces conditions d'aération insuffisante, de l'alcool qui se transformerait en aldéhyde dont l'action serait particulièrement toxique. On s'est beaucoup préoccupé, dans ces derniers temps, du rôle de certaines substances comme *excitants* de la germination.

Depuis De Humbold, qui découvrit l'action du chlore, on pensait que les corps oxydants pouvaient agir favorablement. Mais Gœppert fut amené à conclure dans le sens de la négative. Depuis, Iodin (3) a essayé en vain de remplacer l'eau de chlore par l'eau oxygénée; il n'a pas trouvé non plus d'action favorable avec les azotates.

D'après Wilhelm Sigmund (4), les acides minéraux et organiques sont nuisibles à la germination; seules les graines de Céréales manifestent une certaine résistance vis-à-vis des acides très dilués (au maximum 1 p. 1000 d'acide libre); les sels acides sont plus nuisibles que les sels neutres. Les bases libres et les sels à réaction alcaline sont fortement toxiques.

Les sels à réaction neutre des alcalis et des terres alcalines sont à la concentration maximum de 5 p. 1000, à peu près sans action sur les

(1) Mangin : CXXII, 747.

(2) Mazé : Recherches sur le rôle de l'oxygène dans la germination (Ann. Inst. Pasteur, XIV, 35).

(3) Iodin : Ann. agro., XXIII, 462.

(4) Sigmund : Land. Vers., t. 47, p. 1, 1896.

Digitized by Google

graines de Céréales et les graines des Crucifères. La concentration ne doit pas dépasser 3 p. 1000.

Les nitrates favorisent, selon G. DE CHALMOT (1), la germination du Maïs. D'après JARIUS (2) les solutions salines de 2 à 4 p. 1000 hâtent en général la germination de toutes les graines et augmentent la vitalité des jeunes pousses. Les solutions à 1 et 2 p. 100 sont très nuisibles ; les solutions à 2 p. 1000 des phosphates acides de calcium et de sulfate d'ammoniaque le sont également ; enfin les graines de Graminées se comportent aussi le mieux vis-à-vis des diverses solutions.

L'arsenic est aussi nuisible, mais beauconp plus sous la forme d'acide arsénieux que sous celle d'acide arsénique. Toutefois ce corps peut jouer un rôle en protégeant les graines contre les moississures (JÓNSSON) (3).

Les acides humiques et la tourbe sont également nuisibles ; mais on peut en corriger les mauvais effets en ajoutant de la craie (TOLF) (4).

Mosso (5) pense que les *alcaloïdes* exercent suivant la dose employée une action excitante ou narcotique sur les graines aussi bien que sur les animaux. Ces substances seraient toxiques, selon SIGMUND, à partir de 1 p. 1000 ; même observation pour les antiseptiques organiques.

Ce dernier auteur a montré en outre que les corps gras sont nuisibles à la germination. Selon CSÉRER (6), le procédé de l'huilage des semences augmente le poids de ces dernières et fait disparaître la faculté germinative de certaines graines faibles.

COUPIN (7) a cherché à déterminer, pour un certain nombre de corps et pour des graines données, ce qu'il appelle l'*équivalent toxique*, c'est-à-dire le poids minimum du corps qui, dissous dans 100 parties d'eau, empêche la germination. Cet équivalent est, avec le chlorure de sodium de 1,8 pour le Blé, 1,2 pour le Pois, 1,1 pour la Vesce, 1,2 pour le Lupin, 1,4 pour le Maïs, soit 1,5 en moyenne ; mais il est de 3 à 4 pour les plantes maritimes (*Beta maritana, Atriplex hastata, var maritima, Cakile maritima*).

Les équivalents toxiques des différents composés de sodium, de potassium et d'ammonium sont très variables, mais les toxicités moyennes des composés analogues de ces trois corps sont sensiblement voisines.

Il est bon de remarquer que les expériences de cet auteur ont été faites non sur les graines elles-mêmes, mais bien des graines mises préalablement à germer et dont les radicules mesurent de 2 à 3 centimètres. Ce sont là, comme on le voit, des conditions différentes de celles des auteurs précédents.

(1) G. de Chalmot : Ag. Sc , 12, p. 463, 1894.
(2) Jarius : Land. Vers., XXXII, 2, p. 149.
(3) Jónsson : Königl. Landt. Akad. Handl., 35, p. 95, 1896.
(4) Tolf : Tidskr. Landt., 18, p. 387.
(5) Mosso : Archives italiennes de Biologie ; 21 : p. 321.
(6) Csérer : Biederm. Central., p. 29 : 1896.
(7) Coupin : Revue générale de Botanique ; 1898, p. 177, et 1900, p. 177.

Digitized by Google

Peu de travaux ont été effectués sur le rôle de l'électricité. MALDINEY et THOUVENIN (1) se sont occupés des rayons X et ont constaté qu'ils favorisent la germination, par exemble chez les graines de Liseron, de Cresson, de Millet ; ils se sont assurés que le résultat obtenu n'est pas dû à l'échauffement du sol traversé par les rayons qui auraient alors réellement une action spécifique sur l'évolution des graines.

Passons maintenant aux phénomènes de la germination.

On avait admis, autrefois, que les graines, au cours de leur germination, dégageaient une certaine quantité d'azote ; mais Th. SCHLŒSING fils (2) a montré, par une méthode fondée sur la mesure et l'analyse de l'atmosphère au sein de laquelle les graines se développent qu'il ne se dégage aucune trace appréciable d'azote à l'état gazeux.

LECLERC DU SABLON (3), a constaté que chez les *graines oléagineuses* telles que celles du Colza, de l'Amandier, de l'Arachide, il y a bien formation d'acides gras ainsi que d'une certaine proportion de sucres non réducteurs que l'on peut ranger dans la catégorie des saccharoses et qui est à son tour transformée en glucose directement assimilable.

Selon MAQUENNE (4), si les sucres produits pendant la germination du Ricin ne proviennent pas des albuminoïdes, ils dérivent pour une certaine partie des acides gras ; mais la glycérine pourrait peut-être, conformément aux données de Fischer, se polymériser et les engendrer ; c'est du moins ce que l'on peut admettre pour environ 5 p. 100 des sucres produits dans l'Arachide. Il faut bien remarquer que le mécanisme de la germination des graines oléagineuses est très obscur à cause de la présence, à côté des corps gras, de matières albuminoïdes qui pourraient bien, elles aussi, concourir à former des hydrates de carbone.

(1) Maldiney et Thouvenin : Revue générale de Botanique, 1898.
(2) Th. Schlœsing fils : CR. 10 juin 1895.
(3) Leclerc du Sablon : Revue générale de Botanique ; 1895 et 1897 ; passim.
(4) Maquenne : *Recherches sur la germination des graines oléagineuses* : t. 25 ; 1899 ; p. 5.

(*A suivre*). ED. GRIFFON.

450 — Lille, imp Le Bigot frères Le Gérant : Th. Clerquin

Digitized by Google

ÉTUDE

SUR LES

CARACTÈRES PROPRES A DISTINGUER LES DIVERSES VARIÉTÉS

DE L'*AVENA SATIVA*

par MM. DUFOUR et DASSONVILLE

Les variétés de l'Avoine cultivée (*Avena sativa*) sont nombreuses et souvent difficiles à distinguer les unes des autres avec certitude, parce que la plupart des caractères qui peuvent être invoqués pour faire cette distinction sont variables dans une assez large mesure. D'ailleurs il y a un grand nombre de noms commerciaux qui ne correspondent nullement à des variétés distinctes. L'Avoine dite d'Etampes n'est qu'une Avoine de Beauce sélectionnée avec soin; il en est de même de l'Avoine de Coulommiers qui n'est qu'une belle Avoine de Brie.

La variation de certains caractères est facile à constater surtout quand on compare des Avoines de régions différentes. Aussi les personnes mêmes qui, par leurs occupations professionnelles, doivent être particulièrement à même de distinguer les diverses Avoines, sont très souvent embarrassées; généralement elles connaissent très bien les variétés régionales, mais se trouvent dépaysées devant des Avoines d'autres localités.

MM. Dénaiffe et Sirodot ont publié récemment un important ouvrage (1) dans lequel ils ont précisé divers points relatifs aux caractères qui servent à définir les variétés de l'*Avena sativa*. Nous aurons l'occasion de citer leur travail.

Nous avons été à même d'examiner un grand nombre de variétés d'Avoine venant des régions les plus diverses de la France ou même de l'étranger. En outre, pour connaître la limite dans laquelle pouvait varier un caractère, nous avons fait au Laboratoire de

(1) *L'Avoine*, Paris, 1901.

Digitized by Google

Biologie végétale de Fontainebleau, des expériences et des semis nombreux pendant plusieurs années.

Dans le travail actuel nous nous bornons à étudier les caractères des grains susceptibles d'être employés pour distinguer et définir les diverses variétés.

Passons successivement en revue ces caractères, en commençant par les plus apparents pour terminer par les moins facilement visibles, qui ne peuvent être bien étudiés qu'à l'aide d'une loupe.

I. Couleur.

Ce que l'on remarque de suite dans un grain, c'est sa couleur. D'après leur coloration on peut distinguer cinq types principaux d'Avoines : les Avoines *noires*, *jaunes*, *rousses*, *grises*, *blanches*.

Les Avoines *noires* ont en général un aspect brillant, lustré, un reflet rougeâtre facile à constater, surtout quand les grains, un peu moins colorés, sont brun rouge foncé au lieu d'être véritablement noirs. Les variétés les mieux caractérisées de ce type sont les Avoines dites noires de Beauce ou de Brie.

Les Avoines *jaunes* ont leurs grains d'un jaune paille assez vif, presque doré. L'Avoine jaune de Flandre en est le meilleur type.

Les Avoines *rousses* ont une couleur assez difficile à définir par des mots, mais qu'il suffit d'avoir vue pour ne la confondre ni avec la couleur brun rouge que l'on rencontre souvent dans les Avoines noires pour les grains qui n'ont pas atteint le maximum de la coloration, ni avec la couleur des Avoines jaunes. Les variétés les mieux caractérisées de ce type sont la variété appelée « rousse couronnée » et la variété la plus communément cultivée en Algérie et dans toute la région méditerranéenne.

Les Avoines *grises* n'ont généralement pas une teinte uniforme; cela tient à ce que, le plus souvent, le pigment ne recouvre pas les nervures des glumelles ; ces nervures apparaissent dès lors, sur un fond gris, comme autant de lignes d'un jaune paille assez pâle. Le type est l'Avoine dite « grise d'hiver » ; c'est la principale variété cultivée dans les régions méridionales de la France ; on la rencontre en outre sur les côtés de l'Atlantique et jusqu'en Bretagne.

Les Avoines *blanches* sont, en réalité, rarement tout à fait blanches ; elles ont une teinte jaune paille très pâle, si bien qu'il est parfois difficile de distinguer les grains normalement colorés

Digitized by Google

d'une Avoine blanche des grains peu colorés d'une Avoine jaune.

Il ne faut pas croire que dans un lot d'Avoine les grains ont tous l'une des couleurs typiques que nous venons de décrire. Cela tient à plusieurs raisons.

D'abord, pour faciliter la vente, les commerçants mélangent souvent des variétés de couleurs différentes. Ensuite, dans certaines contrées, en Beauce, en Bourgogne par exemple, les agriculteurs ont pris l'habitude de semer des mélanges de variétés locales, qui ont donné lieu à une production, aujourd'hui normale, d'« Avoines bigarrées ».

Enfin plusieurs causes naturelles, dont certaines seront étudiées plus loin, peuvent produire des modifications dans la couleur de la récolte obtenue en partant même d'un semis bien homogène. Ainsi dans l'Avoine noire de Beauce, on peut trouver des grains brun rouge foncé, brun clair, brun très pâle, sans que pour cela le semis ait été bigarré ; dans une Avoine jaune on trouvera une gamme complète du jaune typique au jaune très pâle, tout à fait semblable à la teinte la plus foncée des Avoines blanches ; le gris des Avoines grises peut être très intense ou extrêmement pâle, avec tous les intermédiaires, etc.

Dans une Note antérieure (1) nous avons déjà indiqué que la décoloration peut atteindre toutes les variétés ; mais nous ne nous sommes pas prononcés à cette époque sur la cause qui avait pu produire le phénomène que nous signalions. Depuis, nous avons fait diverses expériences que nous allons exposer.

Les principales causes de décoloration des grains sont : 1° la nature du sol ; 2° l'âge des grains semés ; 3° leur couleur.

1. *Nature du sol.*

Disons d'abord que pour apprécier la coloration d'une récolte, nous commençons par faire une échelle de teintes au moyen de grains de la variété semée, depuis les plus foncés jusqu'aux plus pâles. Vingt grains suffisent pour obtenir une gamme, et nous pouvons diviser l'ensemble en quatre catégories, dites respectivement, très foncée, foncée, claire, très claire. Puis dans la récolte que nous voulons étudier, nous prenons au hasard 100 grains, et les

(1) *Note sur les variations de coloration de l'Avoine.* (Comptes Rendus de l'Association française pour l'avancement des sciences. Congrès de Nantes, 1898).

Digitized by Google

rapprochant, un à un des grains qui constituent la gamme, nous pouvons dire quelle proportion il y a de grains très foncés, foncés, etc.

Ceci posé une expérience a été faite avec un échantillon d'Avoine de Houdan (1) constitué, au point de vue coloration, de la façon suivante :

NOMBRE DE GRAINS.

Très foncés	Foncés	Clairs	Très clairs
81	0	12	7

On voit que l'ensemble de la récolte est très foncée, et qu'il y a une lacune très facile à apprécier entre les grains formant la majorité comme coloration et les grains clairs.

Semée en terrain sableux assez pauvre, cette Avoine a donne en 1898 une récolte caractérisée ainsi au point de vue de la coloration :

Grain très foncés	Foncés	Clairs	Très clairs
44	29	19	8

Le nombre des grains clairs ou très clairs a un peu augmenté. Mais le fait le plus frappant est la forte diminution des grains de la catégorie la plus foncée, au lieu de 4/5 la récolte n'en contient pas même la moitié, et la catégorie des grains foncés qui, dans l'échantillon primitif, n'était nullement représentée, compte ici environ 3/10 des grains. La décoloration générale est donc bien nette.

L'expérience a été répétée en 1899, en partant, comme semis, de la récolte de 1898, déjà décolorée. Les résultats obtenus ont été non moins concluants que les précédents :

GRAINS RÉCOLTÉS EN 1899.

Très foncés	Foncés	Clairs	Très clairs
0	48	52	0

Il n'y a, il est vrai, dans cette récolte, que fort peu de grains

(1) L'Avoine de Houdan est quelquefois dite « grise ». En réalité les grains les plus colorés d'une récolte venue dans de bonnes conditions sont franchement noirs, et nous pensons que cette variété doit être classée parmi les Avoines noires. Mais les grains, au lieu d'être brillants comme ceux d'une belle Avoine de Beauce, sont d'un *noir mat*. En outre, les grains un peu moins colorés ne sont pas brun foncé, et ils n'ont aucun reflet rougeâtre ; ils sont plutôt *gris de fer*, ce qui permet de s'expliquer la dénomination d'Avoine grise Mais ajoutons que cette coloration est uniforme, et existe même sur les nervures, et ne ressemble en rien aux tons gris des véritables Avoines grises.

Digitized by Google

très clairs, puisque dans nos cent grains pris au hasard, nous n'en avons trouvé aucun de ce ton. Mais le nombre des grains clairs est considérable, 52, plus de la moitié. Le reste, 48, est formé entièrement de grains foncés. Quant à la catégorie des grains très foncés qui existait encore en 1898 dans la proportion de 44 %, elle n'a plus, en 1899, aucun représentant.

Comme on pourrait peut-être attribuer ces décolorations à d'autres causes qu'à la nature du sol, nous avons fait en 1900, des semis comparatifs dans des sols de valeurs très différentes. Les expériences ont porté sur l'Avoine noire d'Etampes, deux échantillons d'Avoine de Houdan de provenances différentes, l'Avoine rousse couronnée et l'Avoine d'Algérie.

Les semis comparatifs ont été faits dans des pots contenant les uns un sol sableux, pauvre, les autres du bon terreau.

Non-seulement, les semis en mauvais terrain ont fourni une plus maigre récolte, paille moins haute, épillets moins nombreux, etc., mais encore des grains d'une couleur plus pâle que dans le bon terrain. La plupart des grains de deux premières variétés n'avaient pas atteint leur couleur noire caractéristique ; ils étaient brun rouge pour l'Avoire d'Etampes, d'un gris noirâtre pour l'Avoine de Houdan ; pour les deux autres variétés, les grains étaient, dans leur ensemble, roux clair.

Ce n'est donc que dans de bonnes conditions de sol que l'Avoine peut atteindre à sa maturité son maximum de coloration ; dans un terrain maigre, un certain nombre de grains pourront présenter cette coloration maximum, mais la plupart seront moins foncés et il y en aura parfois qui n'arriveront qu'à une teinte tout à fait claire.

Il y a plus, dans ces mauvais terrains un grand nombre de grains viennent fort mal ; ils sont très allongés et très grêles, leur glumelle inférieure est repliée et sur la face interne présente un sillon extrêmement étroit ; elle enveloppe entièrement la glumelle supérieure très réduite, et entre les deux glumelles, le grain proprement dit existe à peine à l'état rudimentaire, il est presque complètement avorté. En outre ces grains conservent la couleur verte qu'ont tous les grains jeunes ; c'est ce que l'on appelle des *verdets*.

La présence dans une récolte d'Avoine d'un grand nombre de

Digitized by Google

grains de couleur plus pâle que la couleur type indique donc que cette récolte est de valeur inférieure, et que, sans doute, elle a poussé en mauvais terrain. C'est ce que démontre en particulier, l'existence de nombreux verdets.

On peut cependant avoir parfois une Avoine très homogène de couleur, bien que cette couleur ne soit pas d'une intensité voisine de l'intensité maximum trouvée dans une bonne récolte.

C'est ainsi que l'on connaît sous le nom d' « Avoine rouge de Perche » une Avoine qui présente tous les caractères d'une Avoine de Beauce, sauf qu'au lieu d'être noire, elle est d'une couleur brun rouge. C'est une variété locale qui peu à peu a acquis comme caractère définitif cette teinte particulière. Mais dans le pays on la considère comme inférieure, et elle n'atteint pas le prix de l'Avoine beauceronne typique.

Ceci ne fait que confirmer nos conclusions.

Au point de vue de la reconnaissance de la variété d'une Avoine, il faut donc bien se garder d'étudier des grains isolés quelconques ; on doit avoir soin de ne prendre que les grains très colorés. Des grains pâles pourraient exposer à l'erreur. Assurément une Avoine jaune ne fournit pas une Avoine grise, pas plus qu'une Avoine noire ne fournit une Avoine jaune.

Mais si nous formons de chaque variété de coloration, des gammes allant des grains les plus foncés aux plus pâles, on constatera entre les derniers grains de chaque gamme, une grande ressemblance au point de vue de la couleur. Il serait par exemple quelquefois bien difficile de dire si un grain jaunâtre ou brun très clair appartient à une Avoine jaune ou à une Avoine noire.

Donc au point de vue couleur un grain n'est bien typique que quand il provient d'une récolte obtenue dans de bonnes conditions de sol et de maturité et qu'il est parmi les plus foncés d'un lot. Plus une Avoine a sa coloration typique foncée et plus elle contient de grains de cette teinte, meilleure elle est.

2. *Couleur des grains semés.*

En 1900 nous avons semé en pots, dans un très bon sol, d'une part des grains très colorés, d'autre part des grains plus pâles de diverses variétés d'Avoine. Ainsi un lot de grains très noirs et un lot de grains brun rouge, d'Avoine d'Etampes. Ces derniers ont

Digitized by Google

fourni une récolte moins belle comme rendement, et présentant, en outre, une moindre proportion de grains typiquement noirs.

D'autres variétés ont conduit aux mêmes résultats. Avec une Avoine de Houdan, les grains d'un noir mat foncé ont donné une récolte plus colorée que les grains à tons grisâtres. Avec un échantillon d'Avoine rousse couronnée, les grains roux pâle ont fourni plus de grains pâles que les grains roux foncé. Avec une Avoine à grains jaunâtres (Avoine Milton, variété américaine), en semant des grains entièrement blancs on a obtenu une récolte blanche en très grande majorité ; en semant des grains pris parmi les plus jaunes, on a eu une récolte où la couleur jaune dominait nettement.

L'expérience a été renouvelée en 1902 et a porté spécialement sur des Avoines dites jaunes ou blanches chez lesquelles nous supposions que la couleur était plus susceptible de variation.

Les essais ont porté sur les variétés suivantes : jaune de Flandre, grosse jaune de Thuringe, blanche d'Australie, blanche du Canada, Potato (variété écossaise), blanche de Suède, Triumph (variété américaine), Milton (idem), Abondance (variété allemande), etc.

Remarquons en passant que les Avoines dites blanches n'ont pas toujours, malgré leur nom, tous leurs grains blancs, un certain nombre de ces grains sont souvent jaunâtres. Quant aux variétés l'Avoine jaune de Flandre et l'Avoine jaune grosse de Thuringe, elles ont toutes deux des grains d'un jaune vif, doré quand la coloration est la plus intense possible ; ce sont d'ailleurs deux variétés qui se ressemblent beaucoup à tout point de vue.

Toutes les variétés nommées plus haut et diverses autres moins caractérisées nous ont fourni absolument le même résultat que nos cultures de 1900.

L'examen des récoltes prises en bloc ne laisse aucun doute sur les résultats. Il y a beaucoup plus de grains fortement colorés dans la récolte fournie par les grains les plus jaunes semés que dans celle obtenue par le semis des grains pâles.

Conclusion pratique : sans vouloir trier grain par grain l'Avoine destinée à un semis en grand, il serait utile d'essayer, par un choix assez rapide, d'éliminer en grande partie les grains peu colorés d'une récolte.

Digitized by Google

3. *Age des grains semés.*

Des grains d'une récolte plus ancienne fournissent une Avoine moins colorée que des grains d'une récolte plus jeune. Citons, entre autres, une expérience faite avec l'Avoine de Houdan dont nous avons déjà parlé.

Rappelons la constitution, au point de vue coloration, de l'échantillon primitif et de la récolte obtenue en 1898.

	Grains.			
	Très foncés	Foncés	Clairs	Très clairs
Échantillon primitif	81	0	12	7
Récolte 1898	44	29	19	8

Nous avons semé en 1899, dans les mêmes conditions, un lot de grains de l'échantillon primitif et un lot de grains de la récolte de 1898, les résultats ont été les suivants :

		Très foncés	Foncés	Clairs	Très clairs
Couleur des grains obtenus en semant	L'échantillon primitif	0	18	14	68
	La récolte de 1898. .	0	48	52	0

Nous avons vu précédemment que si on choisit d'une part des grains de couleur foncée, d'autre part des grains de couleur pâle, d'une même variété, ces derniers fournissent une récolte dont l'ensemble est plus pâle que la récolte obtenue par le semis des premiers. Si donc l'élément coloration des grains avait été le seul en jeu dans notre expérience, la récolte fournie par l'échantillon primitif aurait dû être beaucoup plus colorée que celle obtenue au moyen de grains recueillis en 1898. Que voyons-nous au contraire ? que dans le premier lot obtenu, il y a 68 °/₀ de grains très clairs, plus des deux tiers, 14 sont clairs, et 18 seulement foncés. Dans le second lot le nombre des grains très clairs est extrêmement petit, puisque sur les cent pris au hasard, nous n'en avons pas trouvé un seul ; le nombre des grains clairs est 52, le nombre des grains foncés 48. Cette récolte est donc beaucoup moins décolorée que la première quoique provenant d'un semis de couleur moins intense.

La seule condition qui différenciait les deux semis était l'âge des grains semés (l'échantillon primitif nous ayant été fourni en 1897 remontait au moins à la récolte 1896). C'est ce qui justifie la conclusion que nous avons énoncée.

Il faut donc avoir soin, dans la pratique, de ne jamais semer de

Digitized by Google

grains trop âgés. Les meilleurs sont sans doute, des plus jeunes, ceux de la récolte précédente.

II. Arête.

C'est un caractère distinctif du genre *Avena* que la glumelle inférieure porte, sur sa face dorsale, une arête insérée à peu près au tiers de sa longueur à partir du sommet. Les épillets de l'Avoine cultivée sont généralement biflores; c'est uniquement le grain externe, le plus gros, qui porte une arête; le petit grain n'en a pas. (Fig. 40, *a*).

Dans le cas où elle existe, l'arête est le prolongement de la nervure médiane de la glumelle, et il n'y a plus de nervure, depuis le point d'insertion de cette arête jusqu'au sommet de la glumelle. Quand elle n'existe pas effectivement, cette arête peut cependant être indiquée, et considérée comme ayant avorté; car au dessus du point d'insertion de l'arête, il y a souvent, sur la face dorsale de la glumelle, une petite fossette longue de 2 à 3 millimètres, large de 1 millimètre. Or, même quand l'arête n'existe pas, cette fossette peut exister, et la nervure médiane fait défaut au sommet de la glumelle comme si l'arête existait réellement.

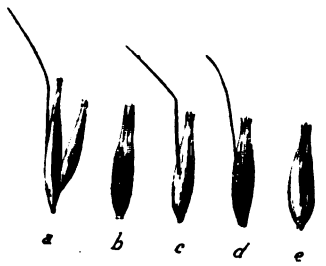


Fig. 40. — *a*, Epillet ordinaire d'*Avena sativa* avec le gros grain pourvu d'une arête, et le petit grain sans arête; *b*, gros grain sans arête; *c*, gros grain avec arête spiralée a la base et genouillée; *d*, gros grain avec une arête simplement un peu sinueuse; *e*, grain *orgé*.

C'est seulement lorsque la glumelle reste convexe sur toute sa face dorsale, et que, de plus, la nervure médiane se prolonge jusqu'à sa pointe, que l'on doit dire qu'il n'y a pas d'arête.

Ceci posé, la présence d'une arête, qui, botaniquement parlant caractérise le genre *Avena*, et qui d'ailleurs est générale chez les espèces sauvages, est, au contraire, loin d'être constante chez l'Avoine cultivée, même pour une variété donnée. Beaucoup de variétés, telle l'Avoine d'Etampes, ont au contraire la grande majorité de leurs grains tout à fait mutiques. Bien plus, on peut trouver, à la fois, sur un même pied, des grains aristés et des grains sans arête.

Digitized by Google

Tout ce que l'on peut affirmer c'est que telle variété *a généralement* une arête; telle autre en est *habituellement dépourvue*. Nous venons de dire que l'Avoine d'Etampes est un exemple du premier cas. L'Avoine grise d'hiver, au contraire, a la plupart de ses grains aristés, surtout si l'on considère comme ayant une arête, les grains où cette arête est avortée, dans le sens où nous l'avons expliqué.

Nous avons voulu voir si la présence ou l'absence d'arête était un caractère pouvant se transmettre par hérédité.

Sur un pied d'Avoine de Brie la plupart des grains possédaient une arête. Dix de ces grains ont été semés dans un pot. Le même pied d'Avoine portait 7 grains dépourvus d'arête; ces grains ont été semés dans un autre pot contenant le même sol que le premier. Dans les deux récoltes les grains aristés sont en majorité, sans que cette majorité soit sensiblement plus forte pour un lot que pour un autre.

D'autres expériences faites d'une façon analogue nous ont fourni le même résultat : partout majorité de grains à arête.

Mais les résultats ont été parfois différents. En semant comparativement des grains aristés et des grains mutiques d'Avoines de Bretagne, du Nivernais, du Bourbonnais, du Doubs, nous avons trouvé que si toutes les récoltes présentaient des grains à arête, cependant de tels grains formaient la majorité quand la récolte provenait de grains à arête, et étaient en minorité dans la récolte fournie par des grains dépourvus d'arête.

Citons une expérience dont les données sont plus précises que les précédentes.

Nous avons semé en pleine terre, un nombre égal de grains à arête et de grains sans arête de deux variétés d'Avoine l'une dite « blanche de Ligowo », l'autre « Hopetown d'Ecosse » et dans les récoltes obtenues nous avons compté le nombre des grains sans arête. Il ne s'agit ici, cela va sans dire, que des gros grains des épillets biflores, les petits grains n'ayant pas d'arête. Les résultats obtenus ont été les suivants :

	Nombre total de grains obtenus	Nombre de grains à arête	Proportions des grains à arête
Blanche de Ligowo			
Semis de grains à arête	820	333	41 °/.
Semis de grains sans arête	1223	441	36 °/.
Hopetown d'Ecosse			
Semis de grains à arête	1895	897	47 °/.
Semis de grains sans arête	503	447	89 °/.

Digitized by Google

Nous voyons que pour la première variété d'Avoine ce sont les grains possédant une arête qui ont fourni la plus forte proportion de grains aristés. Pour la seconde variété c'est juste l'inverse, les grains sans arête ont fourni de beaucoup une plus forte proportion de grains pourvus d'une arête. Aucune conséquence n'est donc à déduire d'une relation entre la présence ou l'absence d'arête dans le semis et ce même caractère dans la récolte. Mais un autre fait doit attirer notre attention Dans un cas comme dans l'autre, c'est la meilleure des deux récoltes qui fournit le plus de grains sans arête. La différence n'est pas très considérable pour la première variété, ni en ce qui concerne les deux récoltes totales comparées, ni en ce qui concerne les proportions de grains aristés : mais enfin il n'en existe pas moins une différence et cela dans le sens que nous l'avons dit plus haut. Pour la seconde variété d'Avoine, au contraire, l'une des récoltes est considérablement plus faible que l'autre, et en même temps cette récolte contient une proportion beaucoup plus forte de grains pourvus d'une arête.

Nous ne voudrions pas généraliser hâtivement le résultat de notre expérience ; mais nous ferons remarquer cependant que les Avoines les mieux cultivées et les plus réputées, les belles Avoines de Beauce ou de Brie, ont toujours une très grande proportion de grains sans arête. Ce fait vient appuyer la conclusion énoncée plus haut.

L'on conçoit en effet qu'en cultivant toujours dans de très bonnes conditions une variété d'Avoine, on pratique, au point de vue de la suppression de l'arête, une sélection inconsciente et qu'on doive arriver de la sorte au résultat actuellement existant, c'est-à-dire à obtenir d'excellentes variétés chez lesquelles l'arête a presque complètement disparu.

Une remarque intéressante encore : l'arête peut se présenter avec des caractères très variés. Elle est parfois fortement tordue en spirale dans sa partie basilaire, puis, à un certain niveau, nettement anguleuse et ensuite presque rectiligne dans la partie terminale.

L'arête est alors dite *genouillée* (fig. 40, *c*). Souvent alors le tiers inférieur est noirâtre tandis que la partie supérieure est jaunâtre.

Dans d'autres cas l'arête est beaucoup plus grêle, moins longue, moins colorée à sa base, presque droite, faisant à peine un ou deux

Digitized by Google

tours de spire répartis sur toute sa longueur (fig. 40, *d*). Ce cas indique, vraisemblablement, un premier pas vers la disparition de l'arête, car c'est chez les variétés d'Avoine qui présentent le plus de grains mutiques que l'on rencontre le plus fréquemment cette forme grêle et sensiblement droite de l'arête.

III. Taille.

Au point de vue de la taille des grains on peut dans l'ensemble d'une récolte constater deux cas bien distincts :

Le plus souvent les grains sont de tailles très différentes, mais les tailles intermédiaires comptent peu de représentants ; on pourrait grouper l'ensemble en deux catégories assez faciles à distinguer : il y a de gros grains et de petits grains.

Les gros grains sont les premiers grains des épillets biflores, les petits grains sont les seconds.

Dans un autre cas, le lot est bien plus homogène, les grains sont presque tous de même taille et se rapprochent des gros grains précédents. Dans ce cas les épillets étaient uniflores, le petit grain ne s'était pas développé. Le caractère d'avoir des épillets uniflores n'est pas constant pour une même variété, mais il se présente cependant plus fréquemment chez certaines variétés que chez d'autres. On le constate souvent par exemple dans l'Avoine grise de Bretagne.

Si l'on cultive dans de bons terrains, avec tous les soins possibles, les diverses variétés d'Avoine, on arrive à obtenir, pour chaque variété, des gros grains externes d'un épillet biflore, ou des grains uniques d'épillets uniflores qui ont une taille assez constante. Les dimensions de ces grains ne varient, chez une variété donnée, qu'entre des limites assez étroites.

On pourrait donc, dans ces conditions, indiquer, pour les diverses variétés, des données assez précises, par exemple les dimensions extrêmes entre lesquelles oscille la taille du grain externe, et cette donnée serait un caractère susceptible d'être utilisé pour reconnaître le grain type de chaque variété (1).

Mais d'abord il y a de nombreuses variétés pour lesquelles cette donnée serait la même. En outre, pratiquement, si l'on considère

(1) Dans leur ouvrage, MM. Denaiffe et Sirodot ont donné un grand nombre d'indications de ce genre.

Digitized by Google

une variété déterminée cultivée dans des pays différents, par suite dans des conditions différentes de sol, de climat, etc., etc., on constate pour la taille des grains des variations bien plus étendues que celles dont il a été question plus haut, souvent même plus étendues que celles qui existent entre les grains types de variétés différentes.

Ainsi de beaux grains d'Avoine de Beauce, venus en Beauce, peuvent avoir jusqu'à 15 et même 18 millimètres de longueur; cette même Avoine cultivée dans le Nivernais ne fournit que des grains plus petits. Les grains de l'Avoine grise d'hiver venant des Côtes-du-Nord ont de 13 à 15 millimètres; cette variété est très répandue dans le Midi de la France, et souvent les grains y sont plus petits qu'en Bretagne.

En conséquence, la taille des grains, bien qu'elle puisse présenter une certaine constance pour une variété donnée dans les conditions spéciales qui ont été indiquées plus haut, ne peut pas, en pratique fournir un caractère permettant de distinguer les variétés les unes des autres.

IV. Forme.

Il existe une série de variétés qui possèdent des grains d'une forme très caractéristique; ce sont des grains dits *orgés* parce qu'ils ont quelque ressemblance avec des grains d'orge (fig. 40, *e*); ils sont courts, larges; leur plus grande largeur est vers le milieu de leur longueur totale tandis qu'habituellement le plus grand diamètre transversal est plus rapproché de la base du grain. Vus de profil, ces grains sont fortement concaves au dessus de leur partie élargie. Sur une longueur totale de 12 à 14 millimètres, leur largeur atteint de 3 millimètres et demi à 4 millimètres.

Parmi les variétés possédant des grains orgés, nous citerons en particulier l'Avoine blanche de Pologne, qui est quelquefois cultivée en France, surtout dans l'Est.

En dehors de cette forme spéciale, on peut dire qu'il n'en existe aucune autre pouvant caractériser soit une variété unique, soit un groupe de variétés.

V. Poids.

Nous dirons du poids ce que nous avons dit de la taille. On peut arriver par sélection à obtenir des échantillons qui, pour une variété déterminée ne présenteront que des variations assez peu

Digitized by Google

étendues. Mais cela suppose des conditions bien uniformes de végétation. Si l'on étudie des lots de grains venus de pays différents, on constate, pour une même variété des différences aussi grandes que celles qui peuvent exister entre deux variétés distinctes.

Voici par exemple des valeurs que nous avons obtenues, pour le poids moyen d'un grain d'un certain nombre de variétés ; les pesées ont porté pour chaque détermination, tantôt sur 50, tantôt sur 100 grains.

Avoine noire de Picardie	de	29mg7 à 33,4
— blanche de Hongrie		37mg4
— White Standard		33mg5
— d'Algérie	de	37mg3 à 39,6
— jaune de Flandre	de	34mg1 à 39,5

D'autre part une même variété, l'Avoine grise d'hiver, venue de régions diverses, nous a fourni les données suivantes :

Bretagne	35mg82
Bourbonnais	36mg2
Nivernais	36mg7
Eure	28mg5
Beauce	27mg

On voit que les différences sont grandes.

Disons cependant que certaines variétés ont, d'une façon générale, des grains assez petits, tandis que d'autres les ont habituellement plus gros. Citons par exemple quelques chiffres empruntés au travail de MM. Denaiffe et Sirodot :

Variétés.	Poids moyen d'un grain.
Avoine Longfellow	19 à 21 mg.
— d'Ecosse Angus	34 à 36
— blanche d'Australie	37 à 40
— de Podolie	45 à 49

Ces nombres pris isolément et choisis bien différents les uns des autres dans un tableau plus étendu pourraient paraître bien définir les variétés indiquées. Il est vraisemblable en effet qu'on ne serait pas embarrassé, si l'on n'avait à distinguer, d'après le poids des grains, et même probablement à simple vue, que les deux variétés extrêmes du tableau ci-dessus, l'Avoine Longfellow et l'Avoine de Podolie. Mais remarquons que le nombre des variétés est très grand, qu'il y a beaucoup de nombres intermédiaires entre ceux qui viennent d'être donnés, et qu'alors la distinction devient plus délicate.

Digitized by Google

Si nous répétons que, en outre, pour une même variété cultivée dans des pays différents, il y a des variations étendues, nous serons obligés de conclure que le poids moyen d'un grain est un élément qui peut avoir une certaine signification, mais qu'on ne saurait en faire une donnée susceptible de permettre de déterminer avec certitude une variété ni même un groupe de variétés.

VI. Poids relatif de l'amande et des glumelles.

Dans le langage courant, on emploie le mot amande pour désigner le grain dépouillé de ses glumelles. Le poids de l'amande relativement au poids total du grain est une donnée intéressante au point de vue pratique. La proportion des matières nutritives est en effet beaucoup plus grande dans l'amande que dans les glumelles. Toutes choses égales d'ailleurs, une Avoine sera donc d'autant plus nutritive que son amande présentera un poids relatif plus considérable.

Pour diverses variétés d'Avoine nous avons déterminé le rapport du poids de l'amande au poids total du grain; les pesées ont été faites avec 50 ou avec 100 grains. Les chiffres ci-dessons indiquent le °/₀ du poids de l'amande au poids total.

Avoine jaune de Flandre		de 71mg7 à 71,1
— White Standard		70mg7
— noire d'hiver de Bretagne		67mg9
— noire de Picardie		74mg1 à 75,2
— noire de Hongrie		65mg1
— blanche de Hongrie		69mg3
— jaune géante à grappes		73mg7
— grise d'hiver	Bretagne	77mg3
	Nivernais	81mg3
	Bourbonnais	77mg4
	Eure	71mg1
	Beauce	74mg3

On voit par ce dernier exemple que le rapport considéré varie, pour une même variété, dans de larges limites.

Ce caractère comme les précédents peut donc fournir une indication utile, mais ne peut guère servir à établir de distinction solide entre les diverses variétés.

MM. Denaiffe et Sirodot ont attiré l'attention sur des caractères plus difficiles à voir que les précédents, mais qui ne sont pas sans

Digitized by Google

utilité dans le travail de distinction des diverses Avoines. Nous voulons parler de la *baguette* et du *talon*.

VII. Baguette.

Pour faire comprendre ce qu'est la baguette, rappelons brièvement comment est constitué un épillet d'Avoine. Entre les deux glumes il y a généralement deux grains, un gros et un petit. Le petit est porté par un court pédicelle qui paraît inséré à la base du gros.

Au battage le petit grain se sépare souvent du gros, soit parce qu'il se détache à son point d'insertion sur son pédicelle, soit parce que le pédicelle se brise à une hauteur plus ou moins grande. Nous verrons un peu plus loin que la distinction entre ces deux modes de séparation du petit grain a de l'importance.

Quoiqu'il en soit, après cette séparation, le pédicelle plus ou moins entier, reste fixé au gros grain et constitue ce que l'on appelle sa *baguette* (fig. 41, *a*).

Le petit grain présente, lui aussi, une baguette; mais cette baguette porte à son extrémité deux petites écailles sèches; ces écailles représentent les deux glumelles d'une troisième fleur de l'épillet, généralement avortée (fig. 41, *b*). De semblables écailles ne peuvent évidemment exister au sommet de la baguette du gros grain d'un épillet biflore.

Il en est autrement de la baguette du grain unique qui est le seul développé quand l'épillet est uniflore. Dans ce cas le second grain avorte; mais il reste représenté par ses deux glumelles réduites à de petites écailles. Alors la baguette du grain porte ces petites écailles à son sommet et ressemble donc tout à fait à la baguette du petit grain d'un épillet biflore (fig. 41, *c*). La différence de taille du petit grain de l'épillet biflore et du grain unique de l'épillet uniflore rend facile la distinction de ces deux grains.

Ceci posé, MM. Denaiffe et Sirodot ont montré que la baguette — il s'agit de celle du gros grain de l'épillet biflore — peut présenter des caractères différents dans les diverses variétés d'Avoine.

Quand le petit grain se détache à son point d'insertion sur son pédicelle, la cassure est nette, régulière, et comme généralement la baguette est un peu renflée à son sommet, cette partie élargie persiste : on dit que la baguette est en tête de clou. Quand au

Digitized by Google

contraire la baguette se brise en un point quelconque de sa longueur, sa cassure est irrégulière, et son sommet n'existant plus, la partie élargie, la tête du clou, a disparu.

En outre la baguette est tantôt régulièrement ronde et lisse, tantôt un peu aplatie et présentant deux petites cannelures longitudinales ; de plus elle est, suivant les cas, munie ou non de petits cils.

Ces caractères de la baguette que nous venons d'étudier seraient, d'après les auteurs, constants pour une même variété d'Avoine. MM. Denaiffe et Sirodot indiquent par exemple que l'Avoine de Houdan présente une baguette légèrement ciliée, aplatie. à deux cannelures, tandis que l'Avoine rousse couronnée a une baguette peu ou pas ciliée, ronde, en tête de clou, sans cannelure.

Fig. 41. — *a*, Gros grain d'un épillet biflore, ayant une baguette dont le petit grain s'est détaché ; *b*. petit grain d'un épillet biflore ayant une baguette dont l'extrémité porte une fleur avortée ; *c*, grain unique d'un épillet uniflore, ayant une baguette avec une fleur avortée à son sommet ; *d*, gros grain d'une Avoine d'Algérie, n'ayant pas de baguette ; *e*, petit grain d'une Avoine d'Algérie, conservant le pédicelle qui le porte.

Ajoutons que l'Avoine d'Algérie, cultivée dans l'Afrique du Nord, en Italie, en Turquie, possède au point de vue de la baguette un caractère tout particulier. Le gros grain ne possède pas de baguette (fig. 41, *d*) parce que cette baguette se brise tout à fait à sa base, de sorte que c'est le petit grain qui l'emporte quand il se sépare du gros. On trouve en effet le petit grain muni de son pédicelle qui lui constitue comme un petit bec à sa base, la direction du pédicelle faisant un certain angle avec l'axe longitudinal du grain (fig. 41, *e*).

Ce caractère particulier du petit grain, ainsi que la couleur rousse des glumelles, permettent de distinguer cette Avoine d'Algérie — dite aussi « Avoine des Abruzzes » — de toutes les autres variétés.

VIII. Talon.

Le talon est la région basilaire du grain, limitée par un petit sillon circulaire qui entoure le grain presque complètement. Le talon présente à son extrémité la cicatrice produite quand le grain s'est détaché du pédicelle qui le portait.

Digitized by Google

Ce talon est un peu différent d'une part chez le grain unique d'un épillet uniflore et le gros grain d'un épillet biflore, d'autre part chez le petit grain. Dans le premier cas il est plus pointu et incurvé vers la face interne du grain ; dans le second il est plus large, très légèrement relevé ou entièrement droit.

La cicatrice qui se trouve à l'extrémité du talon est plus ou moins large et elle est bordée par deux petites lèvres faisant plus ou moins saillie. Tantôt ces lèvres sont sensiblement égales, tantôt l'une est beaucoup plus saillante que l'autre. Ceci surtout chez le grain externe où les caractères sont plus marqués.

Par exemple MM. Denaiffe et Sirodot indiquent que dans l'Avoine Joanette le talon est très fort, la cicatrice est large et présente deux lèvres très inégales ; que dans l'Avoine blanche de Hongrie le talon est fin, la cicatrice a ses deux lèvres égales.

Ces derniers caractères empruntés à la baguette et au talon, bien qu'étant plus difficiles à étudier que les autres parce qu'une loupe est souvent nécessaire pour les bien distinguer, nous semblent des plus intéressants.

Il n'est pas mauvais cependant de faire quelques réserves. Ainsi il n'est pas rare que l'on puisse trouver à la fois dans une même récolte des grains dont la baguette est brisée dans un endroit indéterminé et d'autres où la séparation du petit grain s'est faite nettement au sommet de la baguette qui l'a porté. Les deux lèvres de la cicatrice du talon présentent souvent des aspects assez différents dans une même variété.

Mais ces réserves faites, disons que si ces caractères, comme divers autres que nous avons étudiés, couleur, taille, etc. ne sont pas absolus, ils peuvent cependant intervenir de façon très utile dans la distinction des variétés de l'Avoine.

Résumé.

Nous dirons, pour conclure, que ce n'est pas un caractère unique mais un ensemble de caractères qui permet de définir les diverses variétés d'Avoine et de les distinguer.

La couleur des grains est un des caractères les plus faciles à constater et des plus importants. Mais ici il importe de juger non un grain isolé mais l'ensemble d'une récolte ; ce seront toujours

Digitized by Google

les grains les plus colorés qui représenteront le mieux la couleur typique de la variété considérée.

Pratiquement pour une variété donnée ce sont les récoltes les plus colorées qui sont les meilleures. Un terrain de valeur médiocre fournira toujours une récolte plus pâle ; il en est de même pour des semis faits avec des grains trop âgés ; enfin en semant des grains pâles on obtient également une récolte dont l'ensemble aura une couleur moins intense que si l'on avait semé des grains plus fortement colorés. De là, l'utilité de préférer pour les semis une Avoine de la récolte la plus récente et, dans la limite du possible, d'écarter soigneusement des semis, les grains qui auraient une couleur trop pâle par rapport à la couleur typique de la variété considérée.

Appendice.

Nous voudrions ici ajouter quelques renseignements qui peuvent dans certains cas indiquer la *région* d'où provient une Avoine donnée. Ceci a son importance pratique, une même variété, présentant comme nous l'avons vu certaines différences suivant les localités où on la cultive.

Divers lots d'*Avena sativa* contiennent quelquefois un certain nombre d'épillets d'autres espèces d'Avoines sauvages ou rarement cultivées et dont la présence indique la région où le lot considéré a été récolté. Nous voulons parler de l'*Avena strigosa* et de l'*Avena sterilis* que nous allons décrire brièvement.

L'*A. strigosa* est un peu cultivée dans la partie montagneuse du centre de la France. Aussi est-il assez fréquent d'en rencontrer des épillets dans des Avoines venant du Plateau central. On la rencontre aussi assez fréquemment dans des Avoines de Bretagne. Cette espèce vient donc particulièrement dans les régions granitiques.

Elle est assez facile à reconnaître. Les glumes arrivent à peu près à la hauteur des glumelles, l'inférieure est un peu plus petite que la supérieure. Ce qui donne à l'*A. strigosa* un facies tout particulier, c'est que, en général, les grains de l'épillet possèdent *tous les deux* une arête qui est tordue et noirâtre à sa base, fortement genouillée, et dépassant longuement les glumelles (fig. 42, *a*). En outre la glumelle inférieure de chaque grain, au lieu de présenter simplement deux petites dents, se termine par deux longues épines

Digitized by Google

grêles (fig. 42, *b*). Les grains sont d'une couleur grise, foncée. L'ensemble de l'épillet a un aspect qui ne permet de confondre l'*A. strigosa* avec aucune autre espèce.

L'*A. sterilis* se rencontre çà et là dans les Avoines récoltées en Algérie ou dans les régions méridionales de la France. C'est en Algérie que cette espèce se présente avec ses caractères les plus marqués, qui la rendent, elle aussi, facile à reconnaître. L'épillet

Fig. 42. — *a*, Epillet de l'*Avena strigosa* dont les grains ont tous deux une arête genouillée. — *b*, gros grain d'*Avena strigosa*. montrant les deux pointes allongées qui terminent la glumelle inférieure. — *c*, Epillet d'*Avena sterilis*, ayant encore ses deux glumes. — *d*, Epillet d'*Avena sterilis* dépouillé de ses glumes et présentant ses quatre fleurs dont les deux extérieures ont des glumelles inférieures très velues et pourvues d'une très forte et très longue arête spiralée à sa base, puis genouillée; les deux fleurs intérieures n'ont pas d'arête.

est beaucoup plus grand que l'épillet de l'*Avena sativa*; il atteint parfois 3 et même 4 centimètres.

Il est très ouvert, les glumes s'écartant beaucoup l'une de l'autre à la maturité (fig. 42, *c*). Il est formé de trois fleurs au moins, souvent quatre, dont les deux premières sont presque égales, la troisième, et la quatrième quand elle existe, étant beaucoup plus petites ; il y a en outre une autre fleur avortée. Les glumelles depuis leur base jusqu'à leur milieu sont extrêmement velues chez le

Digitized by Google

premier et le second grain, et ces grains ont tous deux une arête très grosse, très longue, formant à sa base de nombreux tours de spire et fortement genouillée (fig. 42, *d*). Cette arête est, dans sa partie terminale, au dessus de sa courbure, au moins deux fois plus longue que les glumes. L'arête du second grain n'est guère moins forte que celle du premier. Le troisième et le quatrième grain sont glabres et dépourvus d'arête.

Les diverses fleurs de l'épillet se séparent difficilement l'une de l'autre parce qu'elles ne sont pas articulées; c'est la fleur inférieure seule qui présente une sorte d'articulation sur son pédicelle, articulation où elle se détache à la maturité ; l'épillet tombe alors tout entier. On ne peut séparer les diverses fleurs qu'en brisant irrégulièrement leurs pédoncules.

L'*A. sterilis* est représentée en France par une forme dont on a fait parfois une espèce, l'*A. ludoviciana*: en réalité ce n'est qu'une variété dont les épillets sont de plus petite taille. Ces épillets ne présentent généralement que deux grains ; tous deux sont très velus, mais le premier seul a une arête, qui présente les mêmes caractères que l'arête de l'*A. sterilis* type, mais est de moindre dimension.

Les Avoines parmi lesquelles on trouvera des échantillons d'*A. strigosa*, viendront donc, très vraisemblablement, de Bretagne ou du Plateau central ; celles où l'on rencontrera l'*A. sterilis* type seront africaines; celles où la forme *ludoviciana* existera viendront du Midi de la France (Provence, basse vallée du Rhône, vallée de la Garonne, etc.).

Digitized by Google

RECHERCHES

SUR LA FERMENTATION PROPRE

par MM. L. MATRUCHOT et M. MOLLIARD *(Fin)*

(Planches 10 à 13)

II. — BETTERAVE (*BETA VULGARIS* L.) (Pl. 12, fig. 48-67).

L'étude du fruit du Potiron nous a permis de faire avec sécurité le départ entre les modifications qui surviennent dans les cellules du fait de la vie anaérobie et celles qui sont dues soit à des conditions défavorables à la vie de ces cellules, soit à l'intervention de microorganismes; nous avons vu que pour les autres organes soumis à l'expérience, les bouillons de contrôle nous ont presque toujours révélé la présence de bactéries; mais ces êtres n'étaient pas toujours développés dans toute la masse de l'échantillon et l'observation nous a montré que dans les régions où on ne peut déceler au microscope aucune bactérie, et qui se trouvent suffisamment éloignées des régions contaminées, on pouvait retrouver les mêmes modifications morphologiques que dans les échantillons de Potiron purs dans toute leur étendue.

Passons en revue les transformations subies par le tubercule de la Betterave, en examinant successivement les cellules qui ne subissent pas l'action de bactéries et celles qui en subissent l'action directe ou l'action à distance.

A. — Modifications subies par les cellules du parenchyme de la Betterave, dans les régions qui ne sont pas envahies par des bactéries.

Le parenchyme général du tubercule de la Betterave est constitué par de grandes cellules dont le cytoplasma, très finement granuleux, est réduit à une couche pariétale accolée à la membrane cellulaire,

Digitized by Google

très mince dans toute son étendue, sauf dans la région où se trouve le noyau ; ce dernier a un contour circulaire ou elliptique lorsqu'on l'observe de face ; il est le plus souvent aplati parallèlement à la membrane cellulaire contre laquelle il se trouve ; son diamètre peut atteindre 20 μ dans les plus grandes cellules du parenchyme ; dans les petites cellules du parenchyme vasculaire, il mesure à peine 12 μ ; on observe fréquemment 2, quelquefois 3 noyaux dans les cellules les plus volumineuses. La chromatine apparaît répartie uniformément dans toute la masse du noyau (fig. 48) sous forme de grains entre lesquels on ne peut distinguer de réseau ; en outre se trouve un nucléole volumineux *n*, assez fréquemment accompagné d'un second *n'* plus petit ; le gros nucléole peut présenter une vacuole centrale.

Recherchons ce que devient cette structure nucléaire lors de la fermentation propre ; les figures 49 à 52 (Pl. 12) représentent des noyaux d'échantillons laissés 15 jours à l'abri de l'oxygène ; on y observe que toute la masse chromatique s'est portée à la périphérie, en même temps que le noyau est devenu plus turgescent, ce qu'accuse une augmentation de son diamètre, ainsi que la formation assez fréquente de sortes de hernies faisant saillie par rapport au contour du noyau ; ce n'est du reste que graduellement que s'effectue ce rejet de la chromatine contre la membrane nucléaire ; c'est ainsi que dans la coupe optique d'un noyau représentée par la figure 51 on observe une grande partie de la substance chromatique contre la membrane du noyau, mais cette portion périphérique est reliée par des trabécules internes *f*, d'ont l'un, particulièrement épais *fn*, contient les nucléoles *n* et *n'* ; puis ces filaments internes disparaissent peu à peu, celui qui contient le nucléole persistant le plus longtemps (fig. 52) ; vus de face, les noyaux correspondant à une période de 15 jours d'asphyxie se montrent très analogues à ceux que nous avons décrits pour le Potiron après 50 jours de fermentation propre ; on observe la même disposition périphérique des pseudonucléoles *ps* ; ceux-ci se trouvent aux nœuds d'un réseau assez lâche, mais le plus souvent bien apparent (fig. 50) ; enfin, disposition qui complète la ressemblance avec les noyaux de Potiron précédemment étudiés, de chaque côté du nucléole, lorsqu'il est devenu lui aussi périphérique, on remarque l'existence de deux masses chromatiques particulière-

Digitized by Google

ment volumineuses *Ps*, *Ps'* (fig. 50) ; comme dans le cas du Potiron, ces masses se trouvent aux nœuds du réseau nucléaire voisins du nucléole et apparaissent comme ayant la valeur de deux pseudonucléoles plus développés que les autres.

Les modifications qu'on peut observer lorsque la fermentation propre a duré un temps plus long se réduisent à une diminution graduelle de la substance chromatique, et en une application de plus en plus étroite du réseau contre la membrane nucléaire ; à ce dernier point de vue, le filament auquel atteint le nucléole, montre toujours un retard considérable sur le reste du réseau ; c'est ainsi qu'au bout de 40 jours de fermentation propre on peut observer (fig. 54) que tout le réseau est étroitement périphérique, sauf le filament nucléolaire *fn*, qui est encore à quelque distance de la membrane. Dans les noyaux du parenchyme des régions vasculaires on ne distingue plus, au bout de 40 jours de fermentation propre, que le nucléole avec le filament chromatique correspondant, et de place en place, de très fins filaments portant quelques grains chromatiques (fig. 51-61).

Il n'est pas nécessaire d'étendre davantage ces descriptions pour montrer que les modifications qui surviennent dans les noyaux des régions qui se trouvent à l'abri de l'action des bactéries sont de tout point comparables à celles que nous avons plus longuement décrites pour le Potiron.

Dans le cytoplasma qui devient finement réticulé on observe aussi la formation de fines gouttelettes ; elles ont été représentées dans les figures 63 et 66 (*g*) ; il y a donc identité complète dans les deux cas en ce qui concerne les modifications cellulaires et nous sommes autorisés à les rapporter à la même cause, que l'étude du Potiron nous a appris à regarder comme résidant dans le phénomène physiologique de la résistance à l'asphyxie.

B. — **Action des bactéries.** (Pl. 12, fig. 63-67).

Les observations que nous aurions faites uniquement sur la Betterave ne nous auraient pas permis d'établir ce fait d'une manière certaine, car, à côté de cellules analogues à celles que nous venons de décrire, il peut s'en trouver qui présentent de tout autres caractères, provenant de ce que des bactéries se sont développées

Digitized by Google

dans ces cellules ou même dans des cellules voisines ; donnons quelques exemples de l'aspect qu'offrent alors les éléments cellulaires.

Nous avons déjà dit, dans la partie expérimentale de ce travail, qu'il s'était développé sur les échantillons de Betterave en expérience une bactérie dénitrifiante ; si on observe les cellules où elle forme des colonies on voit que le noyau est entièrement désorganisé ; c'est ainsi qu'au bout de 7 jours (fig. 67) on ne reconnaît plus trace d'organisation nucléaire ; seul le nucléole *n* résiste indéfiniment à l'action des bactéries ; la membrane du noyau est dissoute et la chromatine se rassemble en des masses sphériques qui ne possèdent plus la propriété de fixer les colorants. Dans les cellules où les bactéries n'ont pas encore pénétré le noyau présente un aspect opaque (fig. 66) et la substance chromatique altérée n'a plus de forme définie ; le noyau ressemble alors à celui que nous avons décrit pour le Potiron et représenté par la figure 31.

Il en est de même encore du noyau d'autres cellules (fig. 64) subissant l'action des bactéries d'espèce différente de la précédente. Dans cette même figure 64, ainsi que dans la figure 63, on remarque des globules *G*, qui ont réduit énergiquement l'acide osmique et qui résultent de l'action de la température de 33° à laquelle on avait soumis l'échantillon pendant quelques jours après une fermentation opérée à la température de 15° pendant 50 jours. Remarquons que la fig. 63 concernant la Betterave est entièrement comparable à la fig. 42 relative au Potiron. Le parallélisme se poursuit donc entre les cellules du Potiron et celles de la Betterave en ce qui concerne la production de globules huileux, lors de la dégénérescence rapide de la cellule sous des actions variées, telle qu'une température un peu élevée.

III. — OIGNON (*ALLIUM CEPA* L.). (Pl. 13, fig. 68-82).

Les feuilles du bulbe de l'Oignon mises à fermenter vont nous permettre d'observer également deux sortes de cellules : celles qui présentent des modifications semblables de tout point à celles du Potiron et qui peuvent être considérées comme n'ayant pas subi l'action de bactéries (en fait on n'observe jamais de bactéries à leur intérieur) et celles qui, subissant l'action directe ou indirecte de

Digitized by Google

divers microorganismes, se comportent d'une manière toute différente des précédentes.

Nous n'avons pu employer pour les tissus du bulbe de l'Oignon la méthode de fixation au liquide de Flemming parce que leurs cellules contiennent du disulfure d'allyle et de propyle qui réduit énergiquement l'acide osmique ; déjà en quantité considérable dans les cellules fraîches, cette essence augmente rapidement pendant la fermentation propre, de sorte qu'on ne peut plus distinguer aucun élément de la cellule après la fixation par l'acide osmique ; nous avons fixé dans ce cas nos matériaux par le sublimé acétique et les avons colorés à la safranine.

Le noyau à l'état frais (fig. 68) se montre sphérique ; la substance chromatique est répartie dans toute la masse d'une manière homogène, on n'observe pas de réseau, mais de nombreux pseudonucléoles *ps* dont certains sont particulièrement volumineux ; il existe de plus un ou deux nucléoles présentant fréquemment une ou plusieurs vacuoles.

Nous serons brefs en ce qui concerne la description des noyaux dans les cellules qui ont fermenté à l'abri des bactéries, car nous n'avons guère qu'à répéter mot pour mot ce que nous avons dit à propos de la Betterave. On observe en effet la formation d'un réseau à mailles assez larges, seulement plus irrégulières que précédemment, et suivant les filaments de ce réseau s'effectue la condensation de toute la chromatine du noyau ; les figures 69 et 70 correspondent à des noyaux ayant subi la fermentation propre pendant 15 jours ; le noyau de la figure 69 vu par une de ses faces, montre bien ce réseau dans sa partie superficielle ; la figure 70 est une coupe optique d'un noyau semblable et permet de constater que le réseau qui fait complètement défaut dans la partie centrale n'est pas encore périphérique dans toute sa masse, mais se trouve dans une zone externe dont l'épaisseur mesure environ le 1/3 du diamètre du noyau.

Lorsque la fermentation se prolonge cette zone périphérique va en s'amincissant et, au bout de 40 jours environ, le réseau s'est étroitement appliqué contre la membrane (fig. 73); à l'examen comparé des figures 69 (noyau ayant résisté à l'asphyxie pendant 15 jours), 70 (30 jours de fermentation), 73 (40 jours), on reconnaît aisément que les filaments du réseau deviennent de mieux en mieux

Digitized by Google

délimités et par suite plus nets, en même temps que la substance chromatique va en s'atténuant ; ici encore le nucléole est entraîné avec le réseau nucléaire et apparaît d'abord dans l'épaisseur de filaments internes (fig. 70 et 72), puis se trouve amené avec eux à la périphérie du noyau (fig. 73) ; ajoutons que le diamètre du noyau a augmenté très sensiblement comme dans les cas précédents, pendant le phénomène de résistance de l'asphyxie.

Afin de montrer par un dernier exemple à quel point les modifications subies par la cellule sont différentes quand des bactéries interviennent, examinons deux cas différents de transformation nucléaire, se rapportant chacun à une espèce particulière de bactéries. Dans les deux cas nous observerons les cellules de l'épiderme interne de la feuille, dans la région où elle est contaminée. Pour l'une de ces bactéries restées indéterminées on observe (fig. 74-78), après une durée de 40 jours de l'expérience, un réseau périphérique très irrégulier et à mailles excessivement larges, mais se distinguant surtout de celui que nous avons décrit plus haut par une condensation très remarquable de la chromatine qui forme des amas volumineux, à contour net, d'aspect absolument homogène (fig. 75), et se reliant les uns aux autres par de larges filaments ayant les mêmes caractères ; c'est le réseau de tout à l'heure, mais à mailles plus larges et par suite moins nombreuses, et qui, au lieu de rester granuleux, devient compact, comme si la chromatine se dissolvait à l'intérieur des filaments. On trouve d'ailleurs des noyaux présentant un réseau en partie granuleux et en partie compact (fig. 74), de sorte qu'il nous paraît très vraisemblable que nous nous trouvons ici en présence d'une véritable condensation de la chromatine, s'effectuant par dissolution de cette substance ; le nucléole ne se distingue pas ici du reste des substances colorables du noyau ; il n'a plus à ce moment d'existence propre.

Dans la figure 76 il n'y a plus de réseau visible et les amas de chromatine *ch* sont séparés les uns des autres ; la membrane nucléaire *mn* est encore reconnaissable, mais apparaît comme très fine ; puis dans d'autres noyaux (fig. 77) les masses colorables, toujours isolées, sont réduites en nombre et la membrane nucléaire n'existe plus, le contour du noyau est devenu flou, bien qu'on le reconnaisse encore du cytoplasma voisin par son aspect granuleux ; enfin dans certaines cellules (fig. 78) il n'est plus possible de

Digitized by Google

distinguer les limites du noyau. On ne reconnaît plus que quelques masses chromatiques qui finissent elles-mêmes par disparaître, de sorte que beaucoup de cellules apparaissent dans cette région comme dépourvues de toute trace de noyau. Il y a donc eu sous l'action de la bactérie considérée une véritable digestion graduelle de toutes les parties constitutives du noyau.

Pour la seconde espèce de bactérie dont il nous reste à signaler l'action sur les cellules de l'épiderme interne des feuilles constituant le bulbe de l'Oignon, les modifications sont assez différentes (fig. 79-82). Elles se traduisent par une vacuolisation très générale du cytoplasma et du noyau, accompagnée d'une chromatolyse s'opérant uniformément dans toute la masse nucléaire ; le noyau ne tarde pas à perdre son contour propre et n'est bientôt plus délimité que par les vacuoles cytoplasmiques qui l'environnent : c'est ainsi que dans les noyaux des figures 79 et 80 une partie de la membrane subsiste encore alors que les noyaux représentés par les figures 81 et 82 ne sont plus délimités dans toute l'étendue de leur surface que par les vacuoles du cytoplasma. Les nucléoles *n* gardent un temps assez long leur individualité (fig. 79-81), mais ils finissent eux mêmes par se dissoudre et on ne reconnaît plus, dans les cellules les plus modifiées, au milieu du cytoplasma spumeux, comme représentant le noyau, qu'une plage fixant d'une manière homogène les colorants nucléaires (fig. 82).

Les deux cas examinés de l'action des bactéries sur les cellules de l'Oignon présentent donc en commun un phénomène de chromatolyse à l'intérieur du noyau, mais dans le premier cas la chromatine se rassemble en des plages bien définies, alors que dans le second la diffusion a lieu dans toute la masse du noyau. Nous observons ici un phénomène tout à fait comparable à ceux qu'on désigne sous le nom de pycnose en histologie animale où ils sont relativement très répandus et dont B. Longo a récemment fourni chez les végétaux un exemple (1).

Mais retenons surtout de ces faits à quel point la présence de bactéries a changé la structure des cellules asphyxiées et combien la nécessité s'impose dans de pareilles recherches de se mettre à l'abri des microorganismes.

(1) B Longo : Contribuzione alla chromatolisi (picnosi) nei nuclei vegetali (*Ann d. R. Ist. Bot. di Romo,* 1899. IX, p. 89).

Digitized by Google

IV. — POMME (*MALUS COMMUNIS* Poir.) (Pl. 13, fig. 83-84).

L'examen de ce dernier exemple ne nous retiendra pas longtemps et il suffira, pour se convaincre que nous sommes ici encore en présence de modifications entièrement comparables à celles que nous avons déjà décrites, de comparer la figure 83 correspondant à une portion de cellule normale et la figure 84 qui représente une région comparable, après 15 jours de fermentation propre. Dans la cellule fraîche, on observe un cytoplasma très largement réticulé, avec de nombreux leucites, et un noyau de forme ellipsoïdale, contenant un réseau chromatique à mailles assez serrées ; après 15 jours de privation d'oxygène le cytoplasma présente aux angles de ses mailles de fines gouttelettes, entièrement analogues à celles que nous avons signalées pour le Potiron et la Betterave ; les leucites ont un contour plus régulier et paraissent plus turgescents ; il en est de même du noyau qui est devenu exactement sphérique en ayant augmenté de volume d'une manière très apparente ; ici encore la chromatine ne s'observe plus qu'à la périphérie sous forme d'un réseau présentant de fins pseudonucléoles en ses nœuds.

V. — *MUCOR RACEMOSUS* Fres. (Pl. 13, fig. 85-90).

Nous avons cherché à généraliser le plus possible les notions que nous avaient fournies les exemples précédents. Cessant de recourir à des échantillons où la cellule qui fermente agit sur le propre sucre qu'elle tient en réserve, nous nous sommes adressés à des cellules vivant au milieu de la liqueur sucrée qu'elles font fermenter, c'est-à-dire aux Cryptogames inférieurs qui sont les agents de la fermentation alcoolique. Le choix se trouvait forcément assez restreint : on ne connaît guère comme jouissant de cette propriété d'une façon marquée que des levûres, quelques Mucorinées et quelques bactéries.

Nous avons fait choix du *Mucor racemosus* Fres. ; cette espèce est connue depuis longtemps (1) comme une des Mucorinées les plus actives vis-à-vis des liquides sucrés : en moins de 24 heures elle

(1) Cf. Duclaux : Traité de Microbiologie, t. III, p. 15.

Digitized by Google

détermine dans les tubes de culture une fermentation : au bout de 2 jours le dégagement de gaz carbonique est déjà considérable.

Le *M. racemosus*, en tant qu'agent de la fermentation alcoolique, a déjà été étudié au point de vue morphologique et au point de vue physiologique; Klebs, en particulier, a montré, dans son important travail sur la végétation des Cryptogames inférieurs (1), les variations de forme, de structure du mycélium et des organes reproducteurs sous l'influence des modifications apportées dans la composition chimique du milieu ambiant. Lopriore (2) de son côté, a fait voir que l'augmentation de diamètre des filaments pouvait être attribuée en partie à l'action du gaz carbonique. Mais aucun auteur, à notre connaissance, n'a fait l'étude cytologique de ce champignon dans ces conditions variées.

Au point de vue cytologique, on ne connaît du *Mucor racemosus* que la structure nucléaire décrite par divers auteurs, en particulier par Schmitz (3), Léger (4), Istwanffi (5). On sait que les filaments non cloisonnés de ce Champignon renferment, disséminés çà et là dans le protoplasma, un grand nombre de noyaux à structure très simple : ce sont de petits corps sphériques, d'environ 2 μ de diamètre, formés d'une masse chromatique centrale (nucléole ?) entourée d'une aréole claire qui est elle-même limitée à la périphérie par une mince membrane nucléaire (fig. 85).

Mais on ne sait rien relativement aux modifications que peut présenter le contenu des filaments, sous l'influence de la vie asphyxique. Retrouve-t-on ici, dans des organismes aussi éloignés de ceux que nous avons étudiés précédemment, des phénomènes analogues à ceux que présentent le Potiron, la Betterave, etc., telle est la question que nous avons cherché à résoudre.

(1) Klebs : Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Iena, 1896.

(2) C. Lopriore : Ueber die Einwirkung der Kohlensäure auf das Protoplasma (Jahrb. f. w. Bot. 1895, XXVVIII, p. 531-626).

(3) Schmitz : Untersuchungen über die Zellkerne der Thallophyten (Verh. d. Nat. d. Preuss. Rheinlande, 1879, p. 360).

(4) Léger : Recherches sur la structure des Mucorinées (Poitiers, 1895, p. 60).

(5) Istvanffi : Ueber die Rolle der Zellkerne bei der Entwickelung der Pilze (Ber. d. d. Bot. Cos. I, 1895).

Digitized by Google

Nous avons employé comme milieu de culture fermentescible un milieu formé de :

Maltopeptone	8	Sucre candi	100
Phosphate d'ammoniaque.	0.25	Eau.	1000
Acide tartrique. . . .	2		

Au bout de deux jours la fermentation est en pleine activité et l'on peut déjà observer des différences appréciables dans le mycélium. Tout d'abord, tandis que les filaments aériens sont continus, le mycélium immergé et surtout les filaments profonds sont, comme on sait, cloisonnés. Les cloisons sont plus ou moins rapprochées suivant les cas, sans qu'on puisse établir de règle à cet égard. En général les articles ainsi déterminés sont plurinucléés, mais nous avons eu l'occasion d'observer plusieurs filaments où chaque article du mycélium, sur une assez grande longueur, n'était pourvu que d'un très petit nombre de noyaux, deux ou même un seul (fig. 89 et 90) ; ce cas limite conduit donc pour certains filaments du Mucor à une véritable structure cellulaire. On peut même observer, mais rarement, des articles entièrement anucléés (fig. 89) ; la cloison nouvellement formée a laissé d'un même côté les deux noyaux. C'est là un cas tératologique analogue à celui qu'a observé Gerassimoff (1) chez les Spirogyres.

Le contenu cellulaire présente aussi des modifications importantes portant à la fois sur le cytoplasma et sur le noyau. La masse fondamentale du cytoplasma devient moins transparente, plus granuleuse ; au bout de deux jours on peut déjà reconnaître au microscope l'existence de nombreux grains qui, par fixation au liquide de Flemming et coloration par la méthode d'Ehrlich, apparaissent les uns opaques, les autres comme colorés en rouge foncé.

Dans une étude cytologique des Levûres, Wager (2) a montré que parmi les globules qui se trouvent dans le cytoplasma de ces Champignons, après quelque temps de fermentation, il en est de protéiques et d'autres qui, solubles dans l'éther et colorables par la teinture d'alkanna, sont de nature oléagineuse. Nous pensons qu'on observe dans le *Mucor racemosus* quelque chose d'analogue. Certaines de ces granulations nous semblent devoir être assimilées

(1) Gerassimoff : Ueber die kernlosen Zellen bei einigen Conjugaten (*Bull. de la Soc. imp. d. Nat. de Moscou*, 1892).

(2) Wager : The nucleus of Yeast-Plant (*Ann. of Bot.*, 1898, XII, p. 499).

Digitized by Google

aux grains rouges qu'on trouve si fréquemment dans les organismes inférieurs (Protozoaires, Algues, Champignons). Elles sont très réfringentes et prennent sous l'action de divers réactifs (violet de gentiane, fuchsine, bleu de méthylène) une nuance rouge caractéristique.

D'autres granulations prennent, sous l'action du liquide de Flemming, un aspect différent ; elles deviennent opaques et se présentent, à un très fort grossissement, comme contractées sur elles-mêmes et lobées suivant leur contour : c'est un aspect qui rappelle d'une manière frappante celui des gouttelettes que nous avons précédemment étudiées dans les cellules du Potiron et autres Phanérogames. Cette identité de forme et de structure nous fait considérer ces granules comme étant de même nature, c'est-à-dire comme constituant des *gouttelettes asphyxiques* déterminées dans les filaments de Mucor par le phénomène de la fermentation alcoolique.

Au début de la fermentation les noyaux des filaments immergés présentent à peu près le même diamètre (1,5 μ à 2 μ) que celui des filaments aériens (fig. 86-87). A peine pourrait-on peut-être noter une différence de quelques dixièmes de μ en faveur des filaments immergés (fig. 89). Mais à mesure que la fermentation avance, le noyau augmente de volume ; au bout de 15 jours de fermentation (fig. 88 et 90) les noyaux ont plus que doublé de volume. Dans un filament où le phénomène était particulièrement net (fig. 88), le diamètre moyen des noyaux est de 3 μ : par rapport au noyau normal dont le diamètre est de 1,5 à 2 μ, le volume est devenu cinq à six fois plus considérable. Nous avons même observé un noyau N, de taille relativement énorme ; son diamètre de 4,5 μ correspond à une augmentation en volume de 16 fois par rapport au noyau normal.

Nous retrouvons donc, avec le *Mucor racemosus*, le même phénomène d'augmentation de volume du noyau à mesure que la fermentation se poursuit. Ce gonflement du noyau reconnaît sans doute ici les mêmes causes que dans les cas précédents, et doit être considéré comme un phénomène secondaire.

Digitized by Google

CONCLUSIONS

Dans l'étude cytologique que nous venons de faire des cellules produisant la fermentation alcoolique, il faut tout d'abord mettre à part certains résultats accessoires, relatifs aux modifications qui apparaissent dans ces cellules sous l'action de causes diverses amenant une mort plus ou moins rapide de la cellule, modifications que nous avons surtout signalées pour les éliminer.

Nons avons vu qu'une température un peu élevée, que l'immersion dans le liquide de contrôle, que l'oxygène agissant après une période de résistance à l'asphyxie, etc., amènent dans les cellules une *dégénérescence huileuse* très caractérisée.

De même nous avons constaté que, sous l'action de bactéries qui pouvaient se développer dans les échantillons en expérience, les cellules présentaient des phénomènes de désorganisation plus ou moins accentuée ; ceux-ci peuvent être regardés comme le résultat d'une digestion s'opérant à des degrés divers sur les différents éléments de la cellule ; nous avons pu ainsi reconnaître que dans beaucoup de cas le nucléole résiste plus longtemps à cette action que les autres parties constitutives du noyau. Dans plusieurs cas le noyau est le siège d'une chromatolyse très marquée.

Ces faits accidentels mis à part, les modifications cellulaires qui se rapportent au phénomène de la fermentation et qui nous apparaissent comme étant les mêmes pour les cellules produisant de l'alcool aux dépens du sucre qu'elles contiennent et pour les cellules produisant cet alcool aux dépens de sucre se trouvant en dehors d'elles, sont les suivantes :

1° *Formation de fines gouttelettes dans le cytoplasma.*

Le fait que ni le noyau ni les leucites ne présentent jamais de pareilles gouttelettes paraît indiquer que le phénomène de la fermentation alcoolique se produit uniquement dans le cytoplasma.

2° *Gonflement du noyau et, pour les Phanérogames, rejet du réseau chromatique à la périphérie.*

Nous avons expliqué, en faisant l'étude spéciale des cellules du Potiron en voie de fermentation (p. 72), par quelles considérations nous avons été amenés à regarder ces modifications morphologi-

Digitized by Google

ques comme une conséquence des changements survenant dans la composition chimique du milieu, et modifiant d'une façon incessante les conditions de l'équilibre osmotique.

EXPLICATION DES PLANCHES

Lettres communes aux diverses figures :

m, membrane cellulaire
pr, cytoplasma
l, leucite
N, noyau
n, nucléole
ps, pseudonucléoles
g, gouttelettes asphyxiques
G, globules de dégénérescence huileuse

(Les grossissements sont indiqués entre parenthèses).

Planche 10.

Potiron (*Cucurbita maxima* L.)

Toutes les figures correspondent à des cellules parenchymateuses de la pulpe d'un fruit adulte.

Fig. 1 à 3. — Cellules n'ayant pas subi la fermentation propre. — Fig. 1, cellule du parenchyme général, avec cytoplasma *pr* très finement granuleux et noyau ellipsoïdal (350). — Fig. 2*a* et 2*b*, noyaux avec réseau nucléaire, difficilement visible, réparti dans toute leur masse; leur contour irrégulier montre que leur turgescence est faible (750). — Fig. 3*a* et 3*b*, chromoleucites avec leur réticulum protoplasmique *r* (750).

Fig. 4 à 6. — Noyaux de cellules ayant fermenté pendant 10 jours. — Fig. 4*a* et 5*a*, noyaux vus par une de leurs faces; pseudonucléoles *ps*, relativement volumineux, filaments du réseau nucléaire très apparents (750); 4*b*, noyau vu en coupe optique épaisse; *f* filament du réseau nucléaire encore interne, alors que les autres sont devenus périphériques; ce noyau est un peu exceptionnel par ce fait que le réseau nucléaire est presque entièrement d'un seul côté du noyau (750). — Fig. 5*b*, noyau vu en coupe optique médiane; tout le réseau, avec ses pseudonucléoles *ps*, est devenu périphérique (750). — Fig. 6, noyau vu en coupe optique médiane; il existe encore des filaments *f* du réseau nucléaire à l'intérieur du noyau; le nucléole *n* est accolé à l'un de ces filaments (750).

Fig. 7 à 16. — Noyau de cellules ayant fermenté pendant 50 jours; noyaux plus volumineux que précédemment et tous sphériques (675). *Ps* masses chromatiques volumineuses avoisinant le nucléole; elles paraissent homogènes (fig. 9 à 13) ou se laissent décomposer en masses élémentaires, ayant la valeur de pseudonucléoles, au nombre de deux (fig. 14, ps_1, ps_2),

Digitized by Google

3 ou 4 (fig. 8, ps_1, ps_2, ps_3, ps_4). Les pseudonucléoles, aplatis contre la membrane du noyau, vont en s'atténuant et le réseau est de moins en moins riche en chromatine. — Fig. 16, v, région nucléolaire, avec nucléole et pseudonucléoles en voie de disparition (750).

Fig. 17 à 22. — Noyaux de cellules ayant fermenté pendant 100 jours. — Fig. 17, noyau de cellule morte plasmolysé (1100), 18 (750) et 20 (400); le nucléole a entièrement disparu pour le noyau 17 ; l_1 leucites rassemblés autour du noyau ; 19, v région nucléolaire avec chromatine presque entièrement disparue (900). — Fig. 21 (350) et 22 (1100) noyaux et leucites de cellules du parenchyme vasculaire, dans la région immergée dans le bouillon de contrôle. Il s'est formé dans le cytoplasma et les leucites de nombreux globules graisseux *G*, très distincts des gouttelettes asphyxiques *g*; *Gn* gros globules graisseux à l'intérieur du noyau.

PLANCHE 11

Potiron.

Fig. 23 à 29. — Cellules ou noyaux du parenchyme de la pulpe d'un jeune fruit de 13 centim. de diamètre. — Fig. 23, cellule n'ayant pas subi la fermentation propre, avec nombreux amyloleucites *l* répartis uniformément dans la cellule et un noyau *N* ellipsoïdal (350). — Fig. 24, cellule ayant fermenté pendant 15 jours ; le noyau *N* est sphérique ; de chaque côté du nucléole *n* on aperçoit une grosse masse chromatique *Ps*. De nombreuses gouttelettes *g* sont réparties uniformément dans tout le cytoplasma (350). — Fig. 25, cellule ayant fermenté pendant 25 jours ; la cellule est morte, son cytoplasma *pr* est fortement plasmolysé ; tous les amyloleucites sont dans la région nucléaire (350). — Fig. 26, noyau de cellule n'ayant pas fermenté ; sa forme est celle d'un ellipsoïde ; le réseau nucléaire est réparti uniformément dans toute la masse (750). — Fig. 27 et 29, noyaux de cellules ayant fermenté pendant 20 jours, vus par une de leurs faces : ils sont sensiblement plus gros que le précédent et sont sphériques (fig. 27) ou subsphériques (fig 29); le réseau est entièrement périphérique ; *Ps*, *Ps'* gros pseudonucléoles avoisinant le nucléole *n* (750). — Fig. 28, noyau de cellule ayant fermenté pendant 20 jours, vu en coupe optique passant par le nucléole *n* et les 2 gros pseudonucléoles voisins *Ps*, *Ps'*, ; *ps* pseudonucléoles appliqués contre la membrane nucléaire (750).

Les figures 30 à 40 sont relatives à des cellules parenchymateuses de la pulpe d'un fruit adulte.

Fig. 30 à 32. — Action des bactéries. — Fig. 30 cellule ayant fermenté pendant 30 jours à l'abri de tout microorganisme ; plusieurs leucites sont proches du noyau ; les gouttelettes asphyxiques *g* présentent, après fixation par le liquide de Flemming, un aspect ridé très net (750). — Fig. 31, cellule ayant fermenté pendant 30 jours en présence d'une bactérie formant de courts chapelets *b* ; le noyau gonflé, mais non sphérique, ne présente plus trace de réseau chromatique ; le nucléole *n* seul fixe les

Digitized by Google

réactifs colorants et garde son contour (750). — Fig. 32, cellule ayant fermenté pendant 40 jours en présence d'une autre bactérie formant dans cette cellule des zooglées volumineuses telles que *b'*; le noyau *N* a un contour très irrégulier, déchiqueté et on n'observe plus à son intérieur que le nucléole (750).

Fig. 33 à 37. — Action de la température. — Fig. 33, cellule ayant fermenté pendant 30 jours à la température de 15°; le cytoplasma ne présente que des gouttelettes asphyxiques *g* (350). — Fig. 34, cellule ayant fermenté pendant 30 jours à la température de 33°; le cytoplasma est plasmolysé et on observe à son intérieur de nombreux globules huileux *G*; les leucites et le noyau ont subi la même dégénérescence (350). — Fig. 35, portion d'une cellule ayant fermenté pendant 35 jours à la température de 15° et portée ensuite pendant 8 jours à la température de 33°; le cytoplasma est réduit à des globules huileux et les leucites, devenus irréguliers, sont très dégénérés (750). — Fig. 36, noyau d'une cellule analogue à la précédente, avec un gros globule huileux central *Gn* (750). — Fig. 37, cellule ayant fermenté pendant 35 jours à la température de 15° et portée ensuite pendant 8 jours à la température de 33°; tout le cytoplasma est contracté et, en outre des gouttelettes asphyxiques *g*, on y observe de nombreux et gros globules de dégénérescence *G*; *Gn* globule analogue à l'intérieur du noyau (1100).

Fig. 38 à 40. — Action de l'oxygène de l'air après fermentation propre. — Fig. 38, cellule ayant subi la fermentation propre pendant 20 jours; le cytoplasma n'offre que les gouttelettes asphyxiques *g* (350). — Fig. 39, cellule ayant fermenté pendant 20 jours, puis mise en contact avec l'air atmosphérique pendant 10 jours; le cytoplasma présente, outre les gouttelettes asphyxiques *g* des globules huileux *G*. (350). — Fig. 40, cellule ayant fermenté pendant 20 jours, puis mise en contact avec l'air atmosphérique pendant 30 jours; le cytoplasma contracté, les leucites et le noyau présentent de très nombreux globules huileux *G* (350).

Planche 12

Potiron

Fig. 41*a* et 41*b*. — Leucites dégénérés au bout de 8 jours à la température de 33°, après une période de 35 jours de fermentation à la température de 15° (1100 . — Fig. 42, cellule ayant fermenté pendant 35 jours à la température de 15°, puis portée pendant 8 jours à la température de 35°; aux gouttelettes *g* provenant du phénomène de l'asphyxie s'ajoutent de nombreux globules huileux *G*, dans le cytoplasma, les leucites et le noyau (1100).

Fig. 43 à 47. — Cellules de la pulpe du Potiron desséchée lentement à l'air pendant 40 jours. — Fig. 43 et 44, cellules parenchymateuses de la pulpe du fruit adulte, desséchée à l'air; *vp* vacuoles cytoplasmiques; les leucites *l* sont aussi très vacuolisés, ainsi que le noyau *N* (750). — Fig. 45

Digitized by Google

et 46, noyaux de cellules provenant d'échantillons desséchés à l'air pendant 40 jours ; la chromatine ne forme pas de pseudonucléoles nets aux angles du réseau devenu périphérique, mais des amas irréguliers *ch* le long des filaments du réseau nucléaire (750). — Fig. 47, noyau de cellule desséchée à l'air pendant 40 jours ; *Ps*, *Ps'* gros pseudonucléoles avoisinant le nucléole (750).

Betterave (*Beta vulgaris* L.)

Fig. 48. — Noyau du parenchyme général n'ayant pas fermenté ; la chromatine est répartie uniformément dans toute la masse du noyau ; *n* gros nucléole vacuolisé, *n'* nucléole plus petit (750).

Fig. 49 à 52. — Noyaux de cellules ayant subi la fermentation propre pendant 15 jours. — Fig. 49 et 50, noyaux de grosses cellules du parenchyme vus suivant une de leurs faces ; le réseau chromatique est apparent et périphérique ; *Ps*, *Ps'* gros pseudonucléoles voisins du nucléole *n* (750). — Fig. 51 et 52, noyaux du parenchyme vasculaire vus en coupe optique ; une grande partie de la chromatine est périphérique, mais il existe encore des filaments internes *f*, dont l'un est un peu plus épais *fn* contient le nucléole (750).

Fig. 53. — Noyau de cellule ayant fermenté pendant 20 jours ; tout le réseau ainsi que le nucléole est périphérique ; les pseudonucléoles sont petits (750).

Fig. 54. — Noyau de cellule ayant fermenté pendant 20 jours ; le filament *fn* contenant le nucléole est encore à quelque distance de la membrane nucléaire (750).

Fig. 55. — Noyau de cellule ayant fermenté pendant 70 jours (750).

Fig. 56 à 58. — Noyaux de cellules du parenchyme vasculaire ayant fermenté pendant 40 jours (750).

Fig. 59 à 62. — Noyaux de cellules du parenchyme vasculaire ayant fermenté pendant 40 jours (575).

Fig. 63. — Portion de cellule ayant fermenté en présence de bactéries pendant 50 jours, puis portée pendant quelques jours à 33° ; on observe dans le cytoplasma des gouttelettes asphyxiques *g*, des globules de dégénérescence huileuse *G* ; le noyau n'a plus de chromatine distincte (900).

Fig. 64. — Portion de cellule ayant fermenté pendant 50 jours à la température de 15° en présence de bactéries, puis portée pendant 5 jours à la température de 33° ; *G* globules de dégénérescence huileuse ; le noyau a de plus subi l'action à distance de bactéries, sa substance chromatique n'est plus distincte (750).

Fig. 65 et 66. — Portion de cellule ayant fermenté pendant 7 jours, mais au voisinage de bactéries dénitrifiantes ; la substance chromatique n'est plus nette (750).

Fig. 67. — Noyau désorganisé au bout de 7 jours par une bactérie dénitrifiante ; le nucléole seul est respecté (700).

Digitized by Google

PLANCHE 13

Oignon (*Allium Cepa* **L.**)

Fig. 68. — Noyau de cellule normale avec nucléole vacuolisé (900).

Fig. 69 et 70. — Noyaux vus, le premier en perspective, l'autre en coupe optique médiane, après 15 jours de fermentation; le réseau chromatique est en grande partie périphérique (750).

Fig. 71 et 72. — Noyaux vus le premier en perspective, le second en coupe optique médiane, après 20 jours de fermentation (900).

Fig. 73. — Noyau d'une cellule ayant fermenté pendant 40 jours; le réseau chromatique est entièrement périphérique et les filaments sont relativement bien délimités (900).

Fig. 74 à 78. — Cellules de l'épiderme interne de feuilles ayant fermenté pendant 40 jours et subi l'action d'une bactérie — Fig. 74, le réseau chromatique, devenu périphérique et granuleux par la fermentation propre, présente une condensation partielle de la chromatine en gros amas homogènes *ch* (350). — Fig. 75, le réseau chromatique tout entier a subi cette condensation de la chromatine en gros trabécules reliés entre eux (900). — Fig. 76, les gros trabécules chromatiques ne sont plus réunis et on observe des masses chromatiques homogènes *ch*, isolées à la périphérie du noyau, dont la membrane *mn* est devenue très fine (900). — Fig. 77, même stade que précédemment, mais en plus la membrane nucléaire est dissoute (900). — Fig. 78, on n'observe plus que deux masses chromatiques au milieu de la cellule (900).

Fig. 79 à 82. — Cellules de l'épiderme interne ayant fermenté pendant 7 jours et ayant subi l'action d'une bactérie d'espèce différente de la précédente (350).

Le cytoplasma *cp* et le noyau *vn* sont vacuolisés; le noyau perd son contour propre, et toute la substance chromatique subit une diffusion à l'intérieur du noyau.

Pomme (*Malus communis* **Poir.**)

Fig. 83. — Portion de cellule normale avec cytoplasma vacuolisé et noyau à réseau chromatique réparti dans toute sa masse (750).

Fig. 84. — Portion de cellule ayant subi la fermentation propre pendant 15 jours; le cytoplasma présente aux nœuds de ses mailles des gouttelettes huileuses *g*, les leucites *l* sont plus turgescents ainsi que le noyau *N*, dans lequel toute la masse chromatique est devenue périphérique et se trouve comprise dans un réseau très net (750).

Mucor racemosus Fres.

Fig. 85. — Filament aérien; le cytoplasma transparent renferme des noyaux de taille normale *N* et est dépourvu de gouttelettes asphyxiques (975).

Digitized by Google

Fig. 86. — Filament non profondément immergé, d'une culture de 2 jours sur milieu maltopeptonisé. Les noyaux sont sensiblement de même taille que dans les filaments aériens; *g*, gouttelettes asphyxiques; *v*, vacuoles (975).

Fig. 87. — Même culture; filament plus profondément immergé; les noyaux sont un peu plus volumineux (975).

Fig. 88. — Filament profondément immergé d'une culture de 15 jours dans le même milieu; les noyaux sont très volumineux, particulièrement l'un d'eux *N*; gouttelettes asphyxiques *g* et grains rouges (non différenciés sur le dessin) (975).

Fig. 89. — Filament profondément immergé d'une culture de 2 jours dans le même milieu; le filament est cloisonné en articles contenant 1 ou 2 noyaux relativement volumineux; un article est anucléé (1150).

Fig. 90. — Filament profondément immergé d'une culture de 15 jours; chaque article ne possède qu'un seul noyau (975).

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX

DE

PALÉONTOLOGIE VÉGÉTALE

PUBLIÉS DANS LE COURS DES ANNÉES 1897-1900

par M. R. ZEILLER (Suite).

Un certain nombre d'espèces n'ont montré sur un même tronc que des inflorescences mâles, ou bien des inflorescences femelles, et paraissent ainsi avoir été dioïques, comme le sont toutes les Cycadinées actuelles ; d'autres au contraire ont offert à la fois des inflorescences mâles et des inflorescences femelles, et étaient par conséquent monoïques. M. Wieland a trouvé d'ailleurs ces inflorescences femelles constituées comme celles des Bennettitées déjà étudiées par d'autres auteurs, avec des ovules longuement pédonculés, à pédoncules insérés sur un réceptacle commun, entourés d'une série d'écailles interséminales qui ne laissent apparaître à l'extérieur que l'extrême sommet de chacun de ces ovules. Cette constitution, il n'est peut-être pas inutile de le dire en passant, a fait l'objet de quelques observations de la part de M. Worsdell (1), qui, loin d'y voir un type plus perfectionné, un degré plus avancé d'évolution, que dans les appareils fructificateurs des Cycadinées vivantes, regarde la structure des pédoncules ovulifères, parfaitement symétrique tout autour de leur axe, et la position terminale des ovules, comme constituant des caractères primitifs et correspondant, comparativement aux formes actuelles, à une évolution moins avancée.

Les observations les plus intéressantes de M. Wieland sont celles qui ont trait aux inflorescences mâles, sur la nature desquelles on ne possédait avant lui aucune indication et qu'il a pu étudier en détail au moins sur deux espèces, *Cycadeoidea ingens* et *Cyc. dacotensis :* le centre de l'inflorescence s'y montre occupé par un organe conique qui n'est autre chose qu'une inflorescence femelle arrêtée dans son développement : les ovules, très réduits, n'en étaient sans doute jamais susceptibles de fécondation. Autour de cet organe central, sont rangées en cercle, au nombre de douze à vingt, des frondes fertiles mâles, à demi repliées sur elles-mêmes au début et ultérieurement dressées, soudées les unes aux autres à leur base en une collerette continue plus ou moins large.

(1) W. C. Worsdell : The affinities of the mesozoic fossil, *Bennettites Gibsonianus*, Carr. (*Ann. of Bot.*, XIV, p. 717-721 ; 1900).

Digitized by Google

Ces frondes, simplement pinnées, à contour général ovale, sont à peu près dépourvues de limbe, sauf au sommet, où leur axe s'élargit en une expansion terminale tout à fait analogue à celle des carpophylles de *Cycas ;* chacune de leurs pennes latérales porte deux séries, situées de part et d'autre de son axe, de *synangium* allongés, au nombre de 8 à 15 de chaque côté sur les plus grandes pennes, disposés obliquement par rapport à cet axe, brièvement pédicellés, et constitués exactement sur le même plan que les *synangium* des *Marattia*, s'ouvrant en long par une fente apicale, et renfermant deux séries, opposées face à face, de 8 à 20 logettes tubuleuses contiguës, qui s'ouvrent par une fente longitudinale perpendiculaire à la ligne de déhiscence du *synangium ;* mais ces logettes, au lieu de spores, contiennent des grains de pollen ovoïdes ou fusiformes, très analogues à ceux des Cycadinées actuelles. Enfin, autour de ces frondes pollinifères, microsporophylles ou androphylles, sont disposées une série de bractées chargées de longs poils, ainsi que le montre la figure schématique ci-contre (fig. 40) empruntée à M. Wieland. Les fig. 41 et 42 représentent, en outre, un *synangium* de *Cyc. dacotensis* coupé parallèlement, ainsi que ses voisins (fig. 41), et normalement (fig. 42), à la ligne de déhiscence, et en font voir clairement la constitution.

Fig. 40. — Coupe schématique longitudinale d'une inflorescence mâle de *Cycadeoidea*, réduite à la moitié environ de la grand. nat. (D'après M. Wieland).

On a affaire là, en somme, à de véritables fleurs, à appareil femelle central entouré, pourrait-on dire, d'un cercle d'étamines composées, fleurs morphologiquement hermaphrodites, mais unisexuées par avortement, et constituées, ainsi que le fait remarquer l'auteur, sur le plan qui caractérise les fleurs des Angiospermes. M. Wieland insiste, d'une part, sur les affinités que tend à dénoter, entre les Bennettitées et les Marattiacées, ce groupement des sacs polliniques en *synangium* si semblables à ceux des *Marattia*, d'autre part, sur les analogies qui existent entre ces androphylles de Bennettitées et les carpophylles des *Cycas*; il présume que les Cycadinées ont dû descendre de quelque type ancestral tel qu'une Cycadofilicinée hétérosporée, à microsporanges et à macrosporanges localisés sur des frondes distinctes construites sur le même plan que les frondes stériles, et de laquelle on est passé, des Cryptogames, à des Gymnospermes à appareil mâle semblable à celui des Bennettitées, à appareil femelle semblable à celui des *Cycas*. L'association identique que réalisent en sens

Digitized by Google

inverses les *Cycas* et les Bennettitées, d'appareils en forme de cône pour l'un des sexes avec des appareils en forme de feuille à peine modifiée pour l'autre sexe, conduit M. Wieland, en tenant compte des affinités de leur appareil végétatif, à les regarder comme des termes

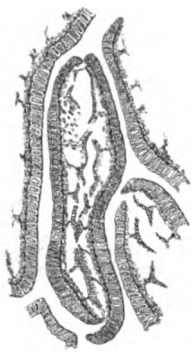


Fig. 41. — Coupe transversale d'un groupe de synangium pollinifères de *Cycadeoidea dacotensis* Macbride. Gross.: 20 diam. (D'après M. Wieland).

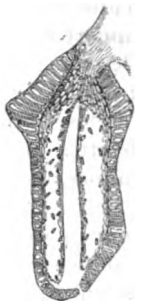


Fig. 42. — Coupe d'un synangium pollinifère de *Cycadeoidea dacotensis* Macbride, passant par le pédicelle et perpendiculaire à la ligne de déhiscence. Gross. : 24 diam. (D'après M. Wieland).

symétriques d'un même groupe, et il n'hésite pas, conformément à l'opinion que j'ai soutenue plus d'une fois et qui est également celle de M. Scott, à rattacher les Bennettitées aux Cycadinées, pour constituer parmi celles-ci une famille ou un ordre de même valeur que les Cycadées et les Zamiées de notre flore actuelle.

V. — Végétaux crétacés et postcrétacés.

A. — *Période crétacée.*

M. Fliche a étudié la flore des couches barrémiennes de Saint-Dizier (1), dans la Haute-Marne, dans laquelle il a observé quelques rameaux de Conifères, un fragment de tige à écorce marquée de rides transversales, qu'il désigne sous le nom de *Coniferocaulon colymbeæforme*, à raison de sa ressemblance avec les tiges de l'*Araucaria* (*Colymbea*) *brasiliensis*, et un cône globuleux à structure conservée, à écailles monospermes épaisses, de consistance probablement charnue, à graine non ailée, qui paraît constituer un type générique nouveau d'Araucariée, auquel l'auteur donne le nom de *Sarcostrobilus*. Les grès verts albiens

(1) P. Fliche : Contribution à la flore fossile de la Haute-Marne (Infracrétacé) *Bull. Soc. d. sciences de Nancy*, 1900, 23 p. 3 pl.).

Digitized by Google

du département de l'Aude (1) lui ont fourni en outre quelques bois de Conifères, notamment un *Cupressinoxylon* et un *Araucarioxylon* nouveaux, remarquablement bien conservés.

M. Barber a, de même, fait connaître (2) une nouvelle forme spécifique de *Cupressinoxylon* des grès verts aptiens de l'île de Wight.

M. Seward a fait une étude détaillée de la flore wealdienne de Bernissart (3), en Belgique, dans laquelle, malgré l'état de fragmentation habituel des échantillons, il a pu reconnaître, particulièrement en ce qui regarde les Fougères, la plupart des espèces typiques du Wealdien de l'Angleterre et de l'Allemagne : il n'y a observé qu'une seule espèce nouvelle, un petit cône de fructification globuleux, qu'il désigne comme *Conites minuta*, mais sans pouvoir en préciser l'attribution.

M. Richter a donné (4) quelques détails sur la flore des couches néocomiennes des environs de Quedlinburg, et principalement de la riche localité du Langenberg, où il a recueilli de nombreuses espèces de Fougères et de Conifères, caractéristiques du Wealdien : il mentionne notamment un *Phlebopteris* et un *Microdictyon* nouveaux, et un nouveau genre de Fougère à fronde cunéiforme bilobée, qu'il désigne sous le nom de *Kohlmannopteris*, mais que M. Potonié rapproche des *Dipteris* et rattache au genre *Hausmannia* (5). M. Richter signale en outre des cônes de *Sequoiopsis* et de *Geinitzia* qui lui paraissent constituer des espèces nouvelles.

Les *Credneria*, si abondants dans la même région, mais sur un horizon un peu plus élevé, ont fait l'objet d'une intéressante note de M. Potonié (6), qui les regarde, avec M. Krasser, comme étroitement alliés aux Platanes, dont ils représenteraient, à son avis, la forme primitive.

M. Stenzel a étudié (7) deux types de Fougères à structure conservée

(1) P. Fliche : Note sur les nodules et les bois minéralisés trouvés à Saint-Parres-les-Vaudes (Aube) dans les grès verts infracrétacés (*Mém. Soc. acad. Aube*, LX, 15 p., 1 pl.; 1897).

(2) C. A. Barber : *Cupressinoxylon vectense*; a fossil Conifer from the Lower Greensand of Shanklin, in the Isle of Wight (*Ann. of Bot.*, XII, p. 329-361, pl. XXIII, XXIV; 1898).

(3) A.-C. Seward : La flore wealdienne de Bernissart (*Mém. Mus. roy. d'hist. nat. de Belgique*, I, p. 1-37, pl. I-IV; 1900).

(4) P. Richter : Neocompflanzen der Kelb'schen Sandgrube bei Quedlinburg (*Zeitschr. deutsch. geol. Ges.*, LI, p. 39-41; 1900); Ueber Quedlinburger Kreide-Coniferen (*ibid.*, LI, p. 43-44; 1900).

(5) H. Potonié : Palæophytologische Notizen. XI. (*Naturwiss. Wochenschr.*, XV, p. 315-316; 1900).

(6) H. Potonié : Palæophytologische Notizen. XII. Ueber die systematische Zugehörigkeit der Crednerien (*Ibid.*, XV, p. 505-507; 1900).

(7) K.-G. Stenzel : Verkieselte Farne von Kamenz in Sachsen (*Mitteil. aus d. k. min.-geol. u. prähist. Mus. in Dresden*, XIII. Heft, p. 1-20, pl. I-III; 1897).

Digitized by Google

provenant des dépôts diluviens de la Saxe, mais d'origine vraisemblablement crétacée : il s'agit, d'une part, d'une tige arborescente rappelant beaucoup celles de nos Cyathéacées, mais que l'auteur se borne à désigner, sous le nom générique de *Caulopteris*, comme *Caul. arborescens*, en la rapprochant de formes analogues du Crétacé et du Tertiaire ; d'autre part, du *Tempskya microrhiza* Corda, dans lequel il voit les restes d'une Fougère ayant eu probablement des rhizômes assez grêles, ramifiés, entourés de nombreuses racines.

La flore cénomanienne de Peruc, en Bohême, a fourni à M. Bayer (1) un nombre important d'espèces nouvelles, notamment des Fougères, représentées par des pennes fertiles, qu'il rapporte au genre *Drynaria*, mais qui me semblent plutôt affines aux Matoniées et qui rappellent surtout certains *Laccopteris* de l'Oolithe inférieure d'Angleterre figurés par M. Seward. Il fait connaître en outre un *Gleichenia*, un *Gymnogramme* et un *Acrostichum* nouveaux, et parmi les Dicotylédones un *Grevillea*, un *Aristolochia* représenté par un fruit, et des feuilles à limbe tronqué au sommet en angle rentrant, remarquablement pareilles, comme forme et comme nervation, au *Liriodendropsis simplex* du Crétacé américain, mais qu'il regarde comme des folioles de feuilles pennées et qu'il rapporte aux Bignoniacées sous le nom de *Bignonia pulcherrima*.

La flore sénonienne supérieure de Chlomek a donné lieu en outre, de la part du même auteur (2), à des observations nouvelles, portant notamment sur quelques nouvelles formes spécifiques appartenant aux genres *Smilax*, *Quercus*, *Dryandroides*, *Cinnamomum* et *Platanus*.

M. Bonarelli a signalé (3) la présence, dans le Sénonien de l'Apennin, de tiges qu'il rapporte au genre *Calamitopsis* v. d. Marck, mais sans pouvoir en préciser davantage les affinités.

M. de Lima a donné (4) un premier aperçu de la composition de la flore sénonienne de diverses localités du Portugal, dans laquelle, à côté d'espèces déjà observées par le Mis de Saporta dans des gisements un peu plus anciens de la même région, il a reconnu un certain nombre de formes nouvelles. Il signale les affinités de cette flore portugaise tant avec la flore heersienne de Belgique qu'avec les flores sénoniennes de Westphalie et du Groënland.

(1) E. Bayer : Einige neue Pflanzen der Perucer Kreideschichten in Böhmen (*Sitzungsber. k. böhm. Ges. d. Wiss.*, 1899, Nr. XXVI, 51 p., 15 fig., 2 pl.).

(2) E. Bayer : Die Flora der Chlomeker Schichten (*Sitzungsber. k. böhm. Ges. d. Wiss*, 1896, 2. Heft, 36 p., 22 fig.).

(3) G. Bonarelli : I fossili senoniani dell'Apennino centrale che si conservano a Perugia nella collezione Bellucci (*Atti. R. Accad. sc. Torino*, XXIV, p. 1020-1027, 1 pl.; 1899).

(4) W. de Lima : Noticia sobre alguns vegetaes fosseis da flora senoniana (sensu lato) do solo portuguez (*Comm. d. direc. d. serv. geol. de Portugal*, IV, p. 1-12 ; 1900).

Digitized by Google

MM. VANHÖFFEN et ENGELHARDT ont étudié (1) les plantes fossiles rapportées par M. de Drygalski des localités classiques de la côte occidentale du Groënland : M. Engelhardt a fait connaître notamment, du gisement infracrétacé de Kome, trois espèces nouvelles, un *Sphenopteris*, un *Zamites* d'attribution peut-être un peu douteuse, et un *Phyllites*. MM. DAVID WHITE et SCHUCHERT ont également exploré ces mêmes gisements et donné (2) les listes des espèces recueillies par eux aux différents niveaux comprenant des couches à empreintes végétales.

Aux Etats-Unis, M. KNOWLTON a fait connaître un *Araucarioxylon* nouveau des couches à troncs de Cycadinées des Black Hills (3), et M. FONTAINE a décrit la flore néocomienne recueillie, dans la même région, sur un horizon un peu plus élevé, dans les gisements charbonneux infracrétacés de Hay Creek, à la limite orientale du Wyoming. Cette flore, très analogue dans son ensemble à celle de la série inférieure du Potomac, lui a fourni un certain nombre d'espèces nouvelles, rapportées notamment aux genres *Cladophlebis*, *Thyrsopteris*, *Scleropteris*, *Glossozamites*, *Araucarites*, *Geinitzia*, *Quercophyllum* et *Ulmiphyllum* ; M. LESTER WARD établit en même temps un genre nouveau, sous le nom de *Feistmantelia*, pour des empreintes du même gisement, marquées de protubérances fusiformes, qu'il compare à des échantillons des Upper Gondwanas de l'Inde figurés par Feistmantel, et dans lesquelles il est porté à voir des moules d'étuis médullaires de Cycadinées. Il décrit en outre, de cette même région des Black Hills, une florule d'âge plus récent, appartenant au groupe du Dakota, c'est-à-dire au Cénomanien, et renfermant, entr'autres, un *Celastrophyllum* et un *Viburnites* non encore décrits.

M. FONTAINE (4) a discuté à nouveau les affinités et l'âge de la flore de la *Potomac Formation*, telle qu'elle est représentée en Virginie, où l'on n'en connait que la subdivision inférieure ; il la rapporte au Néocomien inférieur et moyen, conclusion conforme à celle de M. LESTER WARD (5), qui classe comme Potomac supérieur les couches, plus récentes et plus riches en Dicotylédones, des argiles d'Amboy et des

(1) E. Vanhöffen und H. Engelhardt : Die fossile Flora (*in* E. v. Drygalski, Grönland Expedition der Gesellsch. f. Erdkunde zu Berlin, II, 1. Thl., p. 358-373, fig. 27-30; 1897).

(2) D. White and C. Schuchert : Cretaceous series of the West Coast of Greenland (*Bull. Geol. Soc. America*, IX, p. 343-368, pl. 21-26 ; 1898).

(3) Lester F. Ward : The Cretaceous Formation of the Black Hills as indicated by the fossil plants; with the collaboration of Walter P. Jenney, W. M. Fontaine and F. H. Knowlton (19 th. *Ann. Rep. U. S. Geol. Survey*, pt. II, p. 521-958, pl. LIII-CLXXII ; 1899).

(4) W.-M. Fontaine : The Potomac Formation in Virginia (*Bull. U. S. Geol. Surv.*, N° 145, 149 p. ; 1896).

(5) Lester F. Ward : Professor Fontaine and Dr. Newberry on the age of the Potomac Formation (*Science*, V, p. 411-423 ; 1879.)

Digitized by Google

couches à plantes de la série des Iles, en les rapportant au sommet de l'Infracrétacé.

Cette flore des argiles d'Amboy avait fait l'objet, de la part de M. Newberry, d'une étude monographique détaillée, dont M. Hollick a assuré, après sa mort, la publication (1) : l'auteur y décrit et y figure 156 espèces, dont 86 nouvelles, appartenant à des genres très divers, mais surtout à des Dicotylédones, principalement aux genres *Myrica*, *Magnolia*, *Celastrophyllum*, *Eucalyptus* et *Aralia*. Je mentionnerai, comme offrant un intérêt particulier : des frondes ou thalles à limbe délicat, à ramification pinnée, que l'auteur range, non sans quelque doute, il est vrai, parmi les Hépatiques, tout en les classant dans le genre *Hausmannia*, qui est un genre de Fougères, à frondes d'ailleurs dichotomes et par conséquent très différemment constituées ; un genre nouveau, établi sous le nom de *Fontainea*, pour des feuilles de Dicotylédones à nervure médiane et à limbe bifurqué, rapprochées par M. Newberry des *Hymenæa;* de curieuses inflorescences ayant l'aspect de fleurs de Synanthérées, que l'auteur rapproche des *Williamsonia*, tout en proposant un nom générique nouveau, *Palæanthus*, et qui ne laissent pas de faire songer à des Protéacées ; enfin des fruits ou calices tubuleux de grande taille, désignés par M. Newberry comme *Williamsonia Smockii*, mais qui ne semblent avoir aucun droit à cette appellation générique. Envisagée dans son ensemble et comparée aux autres flores fossiles déjà connues, la flore d'Amboy paraît se rapprocher surtout des flores crétacées moyennes et supérieures et en particulier de la flore cénomanienne de la série du Dakota, bien que d'après M. Lester Ward elle lui soit quelque peu antérieure.

La flore des couches crétacées de la série des Iles, qui succède immédiatement à celle d'Amboy, a donné lieu, de la part de M. Hollick, qui en poursuit l'étude, à de nouvelles observations (2), portant particulièrement sur les gisements de Staten Island et de Block Island, où il a observé une série d'espèces, les unes de la flore d'Amboy, les autres de la flore du Dakota, d'autres de la flore crétacée des régions arctiques; il a reconnu en outre à Staten Island un *Pistacia* nouveau. Il a constaté en même temps la présence, dans les dépôts morainiques de cette même île, de blocs renfermant une série assez importante d'empreintes végétales du niveau des argiles d'Amboy.

Sur un horizon un peu plus élevé encore, les argiles marneuses de Cliffwood, dans le New-Jersey, lui ont fourni (3), avec quelques espèces

(1) J. S. Newberry : The Flora of the Amboy clays. A posthumous work, edited by A. Hollick (*Monogr. U. S. Geol. Surv.*, XXVI, 260 p., 58 pl.; (1895). 1897!

(2) A. Hollick : Additions to the Palæobotany of the Cretaceous Formation on Staten Island N° II (*Ann. N. Y. Acad. Sc*, XI, p. 415-430, pl. XXXVI-XXXVIII ; 1898) ; Notes on Block Island (*Ibid.*, XI, p. 55-88, pl. II-IX ; 1898); Some features of the Drift on Staten Island, N. Y. (*Ibid.*, XII, p. 91-102, pl. I ; 1900).

(3) A. Hollick : The cretaceous clay marl exposure at Cliffwood, N. J. (*Trans. N. Y. Acad. sc.*, XVI, p. 124-136, pl. XI-XIV ; 1897).

Digitized by Google

de la flore crétacée de la Bohême et de la Saxe, un *Araucarites* nouveau du type des *Colymbea*, des écailles de cônes de *Dammara*, un fruit d'apparence charnue rapporté avec doute au genre *Arisæma*, des formes nouvelles de *Quercus* et d'*Acer*, et un bois de Conifère regardé par M. Knowlton comme une nouvelle espèce de *Pityoxylon*.

Ces argiles marneuses du New-Jersey paraissent contemporaines de la série cénomanienne du Dakota, dans laquelle M. Lester Ward a observé, dans les gisements du Sud-Ouest du Kansas (1), une espèce nouvelle d'*Eucalyptus*, *Euc. Gouldii*, extrêmement voisine d'une espèce vivante, l'*Euc. largiflorens* d'Australie.

M. Knowlton a fait connaître la composition de la flore qui a été rencontrée, au Colorado, dans les couches du bassin de Denver (2) appartenant à cet horizon cénomanien du Dakota, qui comprend, à côté d'une majorité de formes déjà connues à ce même niveau dans le Kansas ou le Nebraska, un certain nombre de types spécifiques, les uns des argiles d'Amboy, et les autres du système inférieur de Laramie. Celui-ci est représenté également dans le Colorado, ainsi que l'étage de Denver, qui le surmonte et qui constitue soit le couronnement du Crétacé, soit la base du Tertiaire, par des couches à plantes, renfermant une flore très riche ne comprenant pas moins de 240 espèces pour les deux étages réunis; mais M. Knowlton ne donne que de succinctes indications sur cette flore, qui doit faire de sa part l'objet d'une étude monographique détaillée.

Le même auteur (3) a étudié la flore de la *Montana Formation*, qui correspond à la partie inférieure du système de Laramie, c'est-à-dire au Crétacé tout à fait supérieur : il en décrit 89 espèces, provenant, pour près des deux tiers, de la riche localité de Point of Rocks dans le Wyoming, où les couches à plantes sont recouvertes par des couches marines renfermant encore une faune crétacée ; une trentaine d'espèces sont nouvelles, notamment des Fougères des genres *Asplenium* et *Woodwardia*, plusieurs *Quercus*, *Populus*, *Viburnum* et de nombreux *Ficus*. Quant aux espèces déjà observées dans d'autres régions, les unes sont des espèces du Crétacé moyen, d'Amboy ou du Dakota, les autres des espèces des couches éocènes de la base du Laramie supérieur ; on a donc affaire là à une flore de passage entre le Crétacé et le Tertiaire, ainsi que cela devait être d'après le niveau des gisements.

Il faut sans doute ranger sur ce même niveau la flore des couches de Laramie du Parc National de la Yellowstone, dans laquelle M. Knowlton (4) a observé diverses espèces étroitement alliées ou même identi-

(1) Lester F. Ward : A new species of *Eucalyptus* from the Dakota Group of Southwestern Kansas (*Bull. Torrey bot. Club*, XXIV, p. 576-577, 2 fig.; 1897).

(2) F. H. Knowlton : The fossil plants of the Denver Basin (Colorado) (*Monogr. U. S. Geol. Surv.*, XXVII, p. 466-473 ; 1896).

(3) F. H. Knowlton : Flora of the Montana Formation (*Bull. U. S. Geol. Surv.*, N° 163, x-118 p., 19 pl.; 1900).

(4) F. H. Knowlton : Fossil Flora of the Yellowstone National Park (*Monogr. U. S. Geol. Surv.*, XXXII, pt. II, p. 651-882, pl. LXXVII-CXXI ; 1899).

Digitized by Google

ques à des formes du Laramie inférieur, et en particulier des gisements du Wyoming ; il y a reconnu quatre types spécifiques nouveaux, rapportés par lui aux genres *Asplenium*, *Onoclea*, *Phragmites* et *Paliurus*.

Il reste à mentionner, pour la flore crétacée des Etats-Unis, un travail posthume de M. Newberry (1), publié par M. Hollick d'après les notes manuscrites de l'auteur, et comprenant la description, avec figures, de 174 espèces, dont 67 provenant de divers gisements crétacés échelonnés à différents niveaux depuis le groupe du Dakota, c'est-à-dire depuis le Cénomanien, jusqu'à la base du Laramie supérieur, c'est-à-dire de l'Eocène ; de ces 67 espèces, 21 n'avaient pas encore été figurées, M. Newberry n'en ayant donné jusqu'alors que des diagnoses plus ou moins succinctes ; trois autres sont nouvelles, un *Abietites*, un *Myrica* et un *Sabal*, *Sab. grandifolia*, du Laramie inférieur du Colorado, remarquable par la grande dimension de ses feuilles, qui devaient atteindre 3 mètres de diamètre.

Je citerai encore le catalogue alphabétique de toutes les espèces de plantes du Crétacé et du Tertiaire de l'Amérique du Nord, dressé par M. Knowlton (2), et qui comprend 706 espèces, dont 157 pour le Crétacé et 549 pour le Tertiaire. Ce catalogue, qui indique pour chacune d'elles le niveau et la provenance, ainsi que les ouvrages où elle a été décrite, rendra de grands services à tous les paléobotanistes qui ont à s'occuper de la flore de ces niveaux.

Dans l'Amérique du Sud, M Kurtz (3) a fait connaître la flore des couches crétacées du Cerro Guido, dans la Patagonie austro-occidentale, et en a fait ressortir les étroites affinités avec les flores crétacées de l'Amérique du Nord, en particulier avec la flore cénomanienne du Dakota ; il y signale trois espèces nouvelles, appartenant aux genres *Araucarites*, *Abietites* et *Perseophyllum*.

Enfin des bois fossiles ont été rencontrés dans le Sénonien de Diego-Suarez, à Madagascar, et M. Fliche a reconnu (4) parmi ces bois, qui sont minéralisés par le phosphate de chaux, une nouvelle forme spécifique d'*Araucarioxylon*.

(1) J. S. Newberry : The later extinct Floras of North America. A posthumous work, edited by A. Hollick (*Monogr. U. S Geol. Surv.*, XXXV, xvii-295 p., 68 pl.; 1898).

(2) F. H. Knowlton : A catalogue of the Cretaceous and Tertiary Plants of North America (*Bull. U. S. Geol. Surv.*, N° 152, 247 p.; 1898).

(3) F. Kurtz : Contribuciones à la palæophytologia Argentina. III. Sobre la existencia de una Dakota-Flora en la Patagonia austro-occidental (Cerro Guido, Gobernacion de Santa-Cruz) (*Rev. del Mus. de La Plata*, X, p. 43-60; 1899).

(4) P. Fliche : Note sur un bois fossile de Madagascar (*Bull. Soc. Géol. Fr.*, XXVIII, p. 470-472, 1 fig.; 1900).

(A suivre).

450 - Lille, imp Le Bigot frères. Le Gérant : Th. Clerquin

Digitized by Google

TÉRATOLOGIE ET TRAUMATISME

par Marin MOLLIARD

(Planche 14)

Les deux cas de tératologie qui font l'objet de cette note, et qui se rapportent à des inflorescences de Composées, correspondent à une duplicature de ces inflorescences ; mais ce mot de *duplicature* s'applique à des modifications de nature très diverse, surtout quand il s'agit des Radiées ; le plus souvent on entend par là une transformation des fleurons tubuleux en fleurons ligulés, ou bien on fait allusion à une prolifération de l'axe du capitule qui produit (le fait n'est pas rare dans les *Bellis*) de nouveaux axes florifères à l'aisselle des bractées de l'involucre.

Il n'a pas été fait mention, à ma connaissance, ni dans le domaine de la tératologie proprement dite ni dans celui de la cécidiologie, de cas de prolifération des fleurs mêmes dont la réunion constitue le capitule ; c'est précisément à ce dernier ordre de transformation que correspondent les deux cas que j'ai en vue ; ils représentent une duplicature de fleurs et non plus d'inflorescences.

I. — *Matricaria inodora.*

J'ai observé en premier lieu à Merlimont (Pas-de-Calais), sur le bord d'un chemin de culture, un individu de *Matricaria inodora* présentant un capitule unique, dont l'aspect général était très remarquable (fig. 43). En dedans de l'involucre dont la disposition était normale se trouvait une série de fleurs dont aucune ne présentait de ligule bien constituée ; les fleurs de la périphérie, comme celles du centre, convergeaient vers une forme unique, différente des deux formes normales ; elles offraient une coloration verte, étaient portées par un assez long pédoncule qui les faisaient

Digitized by Google

saillir à la surface du réceptacle et se montraient renflées à divers degrés vers leur extrémité : à première vue elles donnaient l'impression qu'on se trouvait en présence de cécidies semblables à celles qui sont produites, aux dépens des fleurons de la même espèce végétale, par les larves de *Clinorrhyncha Chrysanthemi* H. Löw.

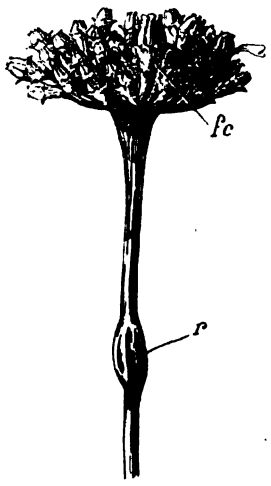


Fig. 43. — Capitule tératologique de *Matricaria inodora*. — *fc*, fleurons transformés en capitules secondaires ; *r*, renflement de l'axe du capitule.

Un examen plus attentif montre qu'on n'a pas affaire à une cécidie florale et que, d'autre part, les différents fleurons modifiés le sont à des degrés assez variables, généralement d'autant plus qu'on les considère plus près de la périphérie du capitule.

Vers le centre, les fleurons tubuleux sont à peine différents des fleurons normaux, mais se dessèchent de bonne heure sans s'épanouir. Dans les fleurs légèrement transformées la corolle tubuleuse n'est presque pas modifiée de forme, les étamines sont présentes avec leurs sacs polliniques bien constitués et un pollen qui paraît normal, les styles ne présentent pas non plus de transformation notable et ce n'est que l'ovaire infère qui apparaît avec des caractères aberrants ; en même temps que celui-ci s'est allongé, il ne s'est pas produit de cavité à son intérieur, il n'y a donc pas trace d'ovule.

A un deuxième degré de modification on retrouve encore des pétales et des étamines normalement développés, mais à la place des styles on observe un prolongement de l'axe, faisant légèrement saillie à l'intérieur des enveloppes florales ; il porte à sa base quelques petites bractées, puis une série de mamelons disposés en capitule et représentant autant de fleurs à un stade peu avancé de développement. Chacune des fleurs du capitule primitif ainsi transformées subit donc une prolifération centrale avec formation immédiate d'un capitule secondaire restant inclus dans la corolle.

Des fleurons plus profondément modifiés peuvent présenter au

Digitized by Google

lieu de sépales rudimentaires des feuilles allongées qui deviennent quelquefois pétaloïdes (fig. 44 C,*s*); en dedans de ce calice les pétales et les étamines forment deux verticilles foliacés; souvent les étamines donnent naissance à une sorte de tube pétaloïde blanc, apparaissant au dehors de la corolle (fig. 44, C, *t*); l'axe court qui se termine par un capitule à l'intérieur des pièces externes de la fleur primitive peut porter quelques fleurs normalement constituées (fig. 45, *f*), mais qui restent toujours fermées; certaines présentent un ovule et des anthères avec les cellules mères des grains de pollen, quelquefois à l'état de tétrades.

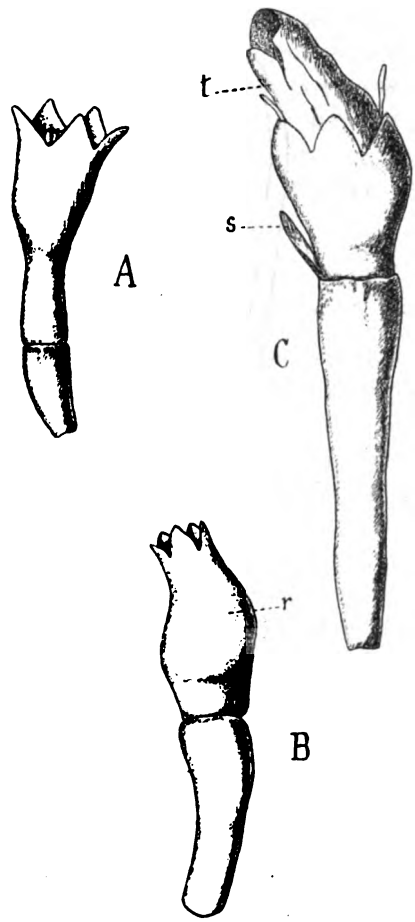


Fig. 44. — A, fleuron normal; B et C, fleurons modifiés de *Matricaria inodora*; *r*, corolle renflée; *s*, sépale pétaloïde; *t*, tube pétaloïde interne.

Je n'insisterai pas sur les modifications de détail qui s'observent d'une fleur à une autre; elles portent, par exemple, sur la forme de la corolle qui peut, pour les fleurons périphériques, se ressentir de la forme ligulée normale, et sur la nature des organes portés par le prolongement de l'axe; c'est ainsi qu'au lieu de bractées foliacées stériles on peut observer des étamines isolées qui les remplacent et peuvent développer des grains de pollen de constitution morphologique normale.

Le capitule primitif de *Matricaria inodora* a donc été transformé

Digitized by Google

en un capitule composé. F. Löw a signalé un cas de prolifération produite, chez le *Crepis biennis*, sous l'action d'un Eryophyide; d'un capitule partent de nouveaux axes se terminant chacun par

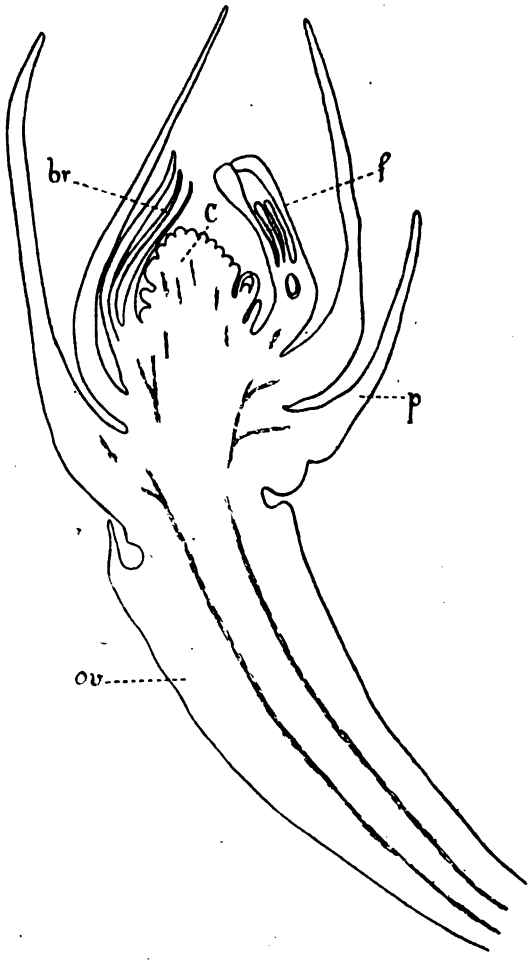


Fig. 45. — Coupe longitudinale d'un fleuron dont l'axe a produit un capitule secondaire C, à bractées involucrales *br*, et présentant une fleur *f* qui s'est développée ; *ov*, ovaire sans cavité ; *p*, corolle primitive.

un capitule secondaire ; c'est également un phénomène tout à fait comparable qui se produit communément dans les épis du *Plan-*

Digitized by Google

tago lanceolata où, à l'aisselle de certaines bractées, peuvent se produire des axes d'épis de second ordre; dans ces deux cas, et il en existe beaucoup d'analogues, on observe, au point où existerait normalement une fleur, l'axe d'une nouvelle inflorescence. Mais ce en quoi le cas du *Matricaria* qui nous occupe diffère profondément de ces derniers, et apparaît comme nouveau pour les Composées, c'est qu'il s'est d'abord différencié une fleur et que ce n'est qu'ultérieurement que celle-ci a subi le phénomène de prolifération, aboutissant d'ailleurs à la formation de capitules qui restent à un stade embryonnaire.

II. — *Senecio Jacobæa.*

Le *Senecio Jacobæa* m'a offert un cas tératologique analogue, correspondant à un individu unique; je l'ai rencontré à Rang-du-Fliers (Pas-de-Calais), contre la haie qui borde la voie ferrée; il présentait des tiges florifères élancées (Pl. 14), comme si elles avaient subi un étiolement; les feuilles étaient plus profondément découpées que chez les individus normaux et surtout les divisions du limbe en étaient plus étroites et à contour plus simple; au lieu d'une inflorescence dense, constituant une sorte de corymbe de capitules, on observait une disposition plus irrégulière des capitules; mais ce sont ces derniers surtout qui étaient méconnaissables; tous sans exception présentaient la forme d'une boule compacte, de couleur jaune soufre, ayant un aspect spongieux, et dépourvue de toute trace de ligules périphériques; par leur aspect général ils rappelaient la cécidie produite par le *Rhopalomyia Ptarmicæ* aux dépens des capitules d'*Achillea Ptarmica*.

Mais ici encore il ne s'agit pas de cécidie et d'ailleurs les modifications sont d'un autre ordre que pour la galle du *Rhopalomyia Ptarmicæ*. Par la dissection on se rend compte qu'il n'existe pas de fleurons sur le disque d'une inflorescence, mais que chacun de ceux-ci est remplacé par un axe qui peut à son tour se ramifier un petit nombre de fois (fig. 46) et porte à son extrémité un petit capitule secondaire dont les fleurs sont à peine ébauchées; elles n'atteignent jamais le degré de développement que nous leur avons vu acquérir dans le cas de l'inflorescence tératologique du *Matricaria inodora*; on n'y observe, par exemple, jamais d'anthères avec des

Digitized by Google

cellules mères de grains de pollen différenciées. Ce sont les bractées involucrales jaunâtres de ces différents petits capitules qui sont visibles à la surface du capitule primitif transformé et donnent à celui-ci son aspect laineux. Souvent les inflorescences les plus

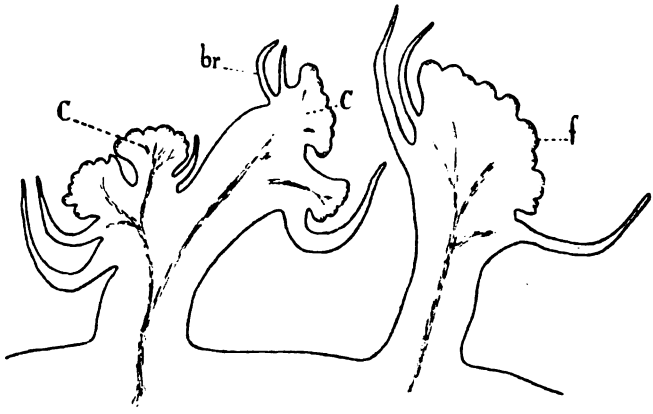


Fig. 46. — Schéma représentant une portion du réceptacle du capitule primitif de *Senecio Jacobæa* ; deux fleurs ont été remplacées par des axes se terminant par un ou plusieurs capitules secondaires C, à fleurs *f* embryonnaires ; *br*, involucre des capitules secondaires.

jeunes se dessèchent pendant qu'elles subissent cette transformation et n'arrivent pas à leur complet épanouissement.

Nous avons donc encore ici une transformation d'un capitule en un capitule composé, mais nous n'assistons pas, comme dans le cas précédent, à la transformation des fleurons eux-mêmes dont on ne retrouve pas de trace.

L'appareil végétatif du *Matricaria* tératologique ne présentait aucune particularité ; il n'en est pas de même pour le *Senecio* ; les tiges de l'individu transformé étaient plus épaisses, mais leurs tissus de soutien très réduits ; le développement du sclérenchyme autour et à l'intérieur des faisceaux ligneux, et surtout dans le péricycle, en face des faisceaux, était très atténué ; de même le tissu collenchymateux était très peu développé dans les côtes corticales ; enfin les formations secondaires étaient sensiblement moins épaisses. Le limbe des feuilles était environ une demi-fois plus épais que celui des feuilles normales et le tissu chlorophyllien prenait l'aspect palissadique dans presque toute son étendue ;

Digitized by Google

le limbe normal ne possédait qu'une assise palissadique bien développée ; dans les feuilles de l'individu tératologique les quatre autres assises du parenchyme s'orientaient comme l'assise palissadique normale, bien que moins allongées perpendiculairement à la surface ; tout se passe comme si, la tige ayant subi un étiolement pendant son développement, la feuille, une fois sortie du bourgeon réagissait par son organisation interne, contre son faible développement en surface.

Les modifications signalées présentent par elles-mêmes quelque intérêt au point de vue morphologique, mais j'ai tenu surtout à les rapporter parce que, dans les deux cas, j'ai pu trouver une explication satisfaisante à leur production.

L'anomalie présentée par l'unique inflorescence de *Matricaria* était liée à la présence, sur l'axe du capitule, d'un léger renflement fusiforme (fig. 43, *r*) ; cette région était brunie, fendillée et par l'ensemble de ses caractères extérieurs et anatomiques elle apparaissait comme résultant d'un écrasement partiel de l'axe, suivi de phénomènes de cicatrisation. Les seuls tissus respectés étaient ceux des faisceux libéroligneux ; ils avaient d'ailleurs été déplacés les uns par rapport aux autres et chevauchaient à des degrés divers ; c'est ainsi qu'un des faisceaux était venu se placer en dedans du faisceau voisin ; entre les cordons vasculaires, vers le milieu du renflement, tout le tissu parenchymateux de l'écorce, de la moelle et des rayons médullaires avait été écrasé et se trouvait desséché ; plus haut ou plus bas on retrouvait ce tissu mortifié par places, il était bordé dans la moelle par des cellules de cicatrisation provenant de cellules primitives qui étaient divisées en 3-5 éléments ; de même les fentes qui se sont produites dans l'écorce étaient bordées par des poils de cicatrisation.

L'axe du capitule a donc été écrasé suivant une région peu étendue suivant la longueur, par une pression ou plus vraisemblablement par une flexion. Quelle que soit la forme de ce traumatisme il en résulte que les conditions de nutrition ont été modifiées pour les organes situés au dessus de la région lésée ; les fleurs avaient ébauché leur développement dans le sens normal lorsqu'est survenu l'accident et n'ont pu l'achever régulièrement.

Nous retrouvons pour le *Senecio Jacobœa* une explication analo-

Digitized by Google

gue, résidant dans une modification de la nutrition consécutive d'un traumatisme. L'individu tératologique de *Senecio* (malgré des recherches minutieuses je n'ai pu, dans la région si riche en cette plante, retrouver aucun autre échantillon anormal) présentait une souche absolument vidée de sa moelle à inuline par de nombreuses larves d'un Curculionide que je crois pouvoir rapporter au genre *Lixus* Fabr. ; les diverses tiges aériennes étaient elles-mêmes largement creusées à leur base et de nombreuses galeries parcouraient la moelle de ces tiges jusque vers les régions supérieures ; sur le bord de ces galeries on observait par places un tissu de cicatrisation toujours peu développé ; elles aboutissaient à l'extérieur, passant entre deux faisceaux dont les éléments libériens se trouvaient fort altérés.

Nous observons donc pour le *Matricaria* et le *Senecio* des modifications tératologiques très analogues et la seule explication qui s'offre à nous se trouve être valable dans les deux cas, ce qui lui donne une nouvelle force. Ajoutons que, dans le cas du *Senecio Jacobœa*, les modifications que nous avons rapportées au sujet de l'appareil végétatif ainsi que la dessiccation des capitules les plus jeunes, de même la dessiccation des fleurons internes du capitule de *Matricaria inodora*, s'expliquent très bien également par une nutrition défectueuse.

Digitized by Google

RECHERCHES CHIMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES

SUR

LA DIGESTION DES MANNANES ET DES GALACTANES,

par la séminase,

CHEZ LES VÉGÉTAUX

par Henri HÉRISSEY

INTRODUCTION

Le premier phénomène de l'utilisation physiologique des divers hydrates de carbone de réserve contenus dans les plantes est une digestion qui se fait sous l'influence de diastases appropriées. Du fait de cette digestion, les hydrates de carbone fixent de l'eau, deviennent solubles s'ils ne le sont déjà et passent finalement à l'état assimilable.

Dans beaucoup de cas, on a quelque connaissance du mécanisme de cette action des diastases, en ce sens qu'on a pu reproduire et étudier *in vitro* les phénonènes observés ou soupçonnés dans la plante vivante. Il en est ainsi, par exemple, pour ce qui concerne l'utilisation de certains hexobioses, comme le saccharose, le tréhalose, le maltose, et même celle de sucres possédant une structure moléculaire plus complexe, d'hexotrioses, comme le raffinose, le mélézitose, le gentianose ; la digestion de l'amidon a été l'objet de recherches innombrables ; celle de l'inuline a été étudiée également, surtout en ces derniers temps.

Mais à côté des substances qui viennent d'être énumérées et d'autres qui leur sont analogues, il existe un grand nombre d'hydrates de carbone de réserve dont la constitution chimique, encore mal élucidée, s'est prêtée assez peu jusqu'à présent à des recherches précises touchant leurs transformations physiologiques. A cette

Digitized by Google

catégorie appartiennent précisément les réserves alimentaires dont il sera question dans le présent travail. C'est au cours des recherches poursuivies depuis plusieurs années dans le laboratoire de M. le professeur Bourquelot, dans le but d'élucider la nature chimique des albumens cornés en général, qu'a été puisée l'idée d'étudier le mécanisme des transformations subies par ces albumens, ou au moins par certains de ces albumens au moment de leur utilisation physiologique.

On comprend facilement qu'une pareille étude ne pouvait se faire sans une connaissance au moins approchée de la nature chimique des matériaux sur lesquels elle devait porter. Il serait à peu près impossible, par exemple, d'étudier la digestion du sucre de canne par une moisissure, si l'on ne connaissait les produits de dédoublement de cet hydrate de carbone ; de même, on comprendrait malaisément un expérimentateur qui entreprendrait des recherches sur le sort du lactose dans l'organisme animal et qui serait totalement ignorant de la constitution de ce sucre.

Il faut bien reconnaître cependant que, pour nombre de substances utilisées dans la nutrition des animaux et des végétaux, on est loin d'être aussi fixé sur leurs propriétés et leur composition qu'on peut l'être sur celles de matériaux simples comme le saccharose et le lactose. Les matières albuminoïdes, par exemple, ne nous ont encore fourni que des notions souvent très incomplètes, touchant leur composition ; on a pu néanmoins aborder avec fruit l'étude de leurs transformations physiologiques. De même, si la composition centésimale de l'amidon est bien établie, si l'on connaît d'une façon à peu près précise les produits intermédiaires et terminaux qui en dérivent sous l'influence des enzymes et des acides, il n'en est pas moins vrai que nous sommes absolument ignorants sur sa condensation, autrement dit sur la grandeur de sa molécule. Néanmoins, les recherches physiologiques auxquelles a donné lieu l'amidon ont conduit à des résultats dont beaucoup sont tout à fait définitifs.

Les hydrates de carbone que j'ai étudiés au point de vue de leurs transformations physiologiques ont une constitution chimique dont l'étude, entreprise seulement depuis assez peu de temps, est loin de nous en avoir rendu la connaissance aussi familière que l'est celle, même incomplète, de l'amidon. Une propriété fondamentale com-

Digitized by Google

mune à tous ces hydrates de carbone, c'est que, traités par les acides minéraux étendus et bouillants, ils sont susceptibles de fournir du *mannose* et du *galactose*, sucres possédant la même formule brute que celle du *glucose-d* ou *dextrose*, qui provient de l'amidon dans des conditions identiques.

L'amidon n'est pas, tant s'en faut, le seul produit naturel qui, traité par les acides, fournisse du dextrose; la cellulose, par exemple, est dans le même cas; et cependant, on ne saurait assimiler en aucune façon la cellulose et l'amidon. Les deux corps, pour nous conformer à une nomenclature simple et explicite, rentrent bien dans le groupe des *dextranes*, mais ce sont des dextranes que des propriétés spéciales différencient profondément.

Les *mannanes* et les *galactanes*, en dehors de ce caractère de fournir à l'hydrolyse, les premières du mannose, les secondes du galactose, constituent, comme les dextranes, des groupes de substances diverses, susceptibles de différer profondément les unes des autres; et, en fait, au point de vue de l'étude physiologique, je n'ai dû envisager que quelques-unes d'entre elles seulement.

Dans l'exposé qui sera fait de mes recherches, je m'efforcerai tout d'abord de donner un aperçu général aussi sommaire que possible de la nature des réserves alimentaires dont la digestion sera étudiée au cours de ce travail.

Je rappellerai ensuite les expériences qui ont permis de réaliser, en dehors de la plante vivante, l'étude de l'utilisation physiologique des mannanes et des galactanes. Je serai ainsi amené à montrer que le travail de cette utilisation est exclusivement effectué par certaines diastases. Le fait de pouvoir emprunter la matière digestible et le ferment à des organismes tout à fait éloignés l'un de l'autre nous permettra d'intéressantes généralisations. J'exposerai en détail quelques-unes des expériences qui m'ont permis d'isoler les produits résultant de l'action des diastases et d'établir ainsi leur nature d'une façon définitive.

Ayant ainsi rassemblé des notions suffisantes sur la matière digérée et sur les ferments qui la digèrent, j'appliquerai les connaissances acquises dans ces recherches à l'étude des phénomènes qui se passent dans la plante elle-même. En terminant, j'énoncerai les conclusions qui peuvent logiquement se déduire des faits mis en lumière au courant de ces recherches.

Digitized by Google

En dehors des points nouveaux qui ont été abordés, ce travail conduit à l'extension et à la généralisation des résultats acquis dans des recherches précédentes, auxquelles avait bien voulu m'associer M. le professeur Bourquelot. Que ce maître bienveillant, à qui je dois le goût et l'habitude de la recherche scientifique, veuille bien me permettre de lui exprimer ici l'expression de ma respectueuse reconnaissance et de mon profond attachement. Toutes mes recherches, poursuivies à ses côtés, ont été inspirées de ses conseils. Si l'élève, à de certains moments, a paru faire preuve de quelque originalité, qu'on en cherche la cause dans la réminiscence inconsciente d'un enseignement qui ne lui fit défaut à aucun instant.

Chapitre Premier

APERÇU GÉNÉRAL SUR LA NATURE CHIMIQUE DES RÉSERVES ALIMENTAIRES ÉTUDIÉES AU COURS DE CE TRAVAIL.

Les hydrates de carbone insolubles dans l'eau, qui constituent l'albumen corné d'un grand nombre de semences, ont été pendant longtemps confondus avec la cellulose et, comme tels, désignés sous le nom de cellulose de réserve.

En 1889, Reiss (1) fit remarquer avec juste raison qu'il n'était peut-être pas tout à fait justifié d'attribuer à la substance dure, — constituant l'aliment primitif de l'embryon, dans des semences comme celles de dattier, de corrozo et de noix vomique, — des propriétés et une nature chimique analogues à celles de la cellulose des fibres de coton. Il entreprit d'étudier chimiquement ces graines à albumen corné *cellulosique,* et il leur appliqua la méthode hydrolytique qui, jadis utilisée par Braconnot, avait permis à ce dernier de transformer la cellulose en un sucre fermentescible, qui n'était autre que le glucose ou sucre de raisin.

Par l'hydrolyse sulfurique, Reiss obtint un sucre réducteur,

(1) Ueber die in den Samen als Reservestoff abgelagerte Cellulose und eine daraus erhaltene neue Zuckerart, die « Seminose »; *Ber. d. d. chem. Ges.* XXII, p. 609, 1889.

Digitized by Google

déviant à droite le plan de la lumière polarisée, fermentescible, non cristallisé, mais dont l'individualité chimique était, sans contredit, attestée par plusieurs combinaisons très caractéristiques du nouveau corps, et susceptibles d'être obtenues à l'état cristallisé. Il appela « séminose » le sucre ainsi préparé à l'aide des semences appartenant aux espèces suivantes : *Phytelephas macrocarpa* R. et P., *Phœnix dactylifera* L., *Chamærops humilis* Thunb, *Lodoicea seychellarum* Labill., *Elæis guineensis* Jacq., *Allium Cepa* L., *Asparagus officinalis* L., *Iris Pseudacorus* L., *Strychnos Nux vomica* L., *Coffea arabica* L.

En réalité, le séminose n'était autre que le mannose, sucre antérieurement découvert par Fischer et Hirschberger (1) dans les produits d'oxydation de la mannite par l'acide nitrique. Ces deux auteurs identifièrent complètement les deux sucres (2). L'obtention pratique du mannose, considérablement facilitée par le travail de Reiss, devait en permettre l'étude approfondie, féconde en résultats du plus haut intérêt.

En 1894, Grüss (3), à la suite de recherches physiologiques sur l'albumen du Dattier, arriva à cette conclusion que la solution de l'endosperme dans la datte en germination est provoquée par un ferment du groupe de la diastase du malt ; l'action de cet enzyme donnerait finalement un corps soluble qui, d'après l'auteur, serait « vraisemblablement du mannose ». Comme on le verra au cours de ce travail, nous avons précisément, M. Bourquelot et moi, démontré expérimentalement pour la première fois en 1899, la possibilité de l'obtention du mannose sous l'action d'un ferment soluble (4) ; nous avions alors opéré non pas sur des albumens de Palmiers, mais sur des albumens de semences de Légumineuses. En 1901, nos recherches sur l'albumen de la graine de *Phœnix canariensis* Hort. (5)

(1) Ueber Mannose; *Ber. d. d. chem. Ges.*, XXI, p. 1805, 1888.

(2) Ueber Mannose, III et IV ; *Ber. d. d. chem. Ges.*, XXII, p. 1155 et 3218, 1889.

(3) Ueber die Einwirkung der Diastase Ferment auf Reservecellulose; *Ber. d. d. bot. Ges.*, *General. Vers.*, XII, p. 60, 1894.

(4) Em. Bourquelot et H. Hérissey : Germination de la graine de Caroubier; production de mannose par un ferment soluble; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXXIX, p. 614. 1899; *Journ. Pharm. et Chim.*, (6), X, p. 438, 1899.

(5) Em. Bourquelot et H. Hérissey : Sur la composition de l'albumen de la graine du *Phœnix canariensis*, et sur les phénomènes chimiques qui accompagnent la germination de cette graine; *C.-R Ac. Sc.*, CXXXIII, p. 302, 1901; *Journ. Pharm. et Chim.*, (6), XIV, p. 193, 1901.

Digitized by Google

nous ont permis de formuler cette conclusion qu'il y avait bien, durant la germination des graines de ce Palmier, production d'un ferment soluble capable d'hydrolyser les mannanes de l'albumen de ces graines, avec formation de mannose.

Grüss (1), à la suite de nouvelles recherches sur les semences du Dattier, a cru devoir conclure de ses expériences que les mannanes et les galactanes contenues dans l'albumen fournissent effectivement du mannose et du galactose, pendant la germination, sous l'influence des diastases sécrétées par l'embryon (2).

La présence des galactanes, à côté des mannanes, dans les graines à albumen corné, dit cellulosique, a été signalée de bonne heure par Schulze et ses élèves (3), en particulier dans les semences de *Cocos nucifera* L., d'*Elæis guineensis* Jacq., de *Phœnix dactylifera* L., de *Coffea arabica* L.

D'une façon générale, les galactanes accompagnent fréquemment les mannanes dans les graines à albumen corné cellulosique. C'est ainsi que ces deux hydrates de carbone ont été décelés par M. Bourquelot (4) dans les graines de *Conium maculatum* L., et par G. Champenois (5) dans plusieurs autres semences d'Ombellifères (*Œnanthe Phellandrium* Lam., *Petroselinum sativum* Hoffm., *Coriandrum sativum* L., *Carum Carvi* L.), ainsi que dans la graine d'*Aucuba japonica* L.

E. Liénard (6), d'autre part, dans l'étude qu'il a faite de l'albumen de quelques graines de Palmiers (*Areca Catechu* L., *Chamærops*

(1) Ueber den Umsatz der Kohlenhydrate bei der Keimung der Dattel; *Ber. d. d. bot. Ges.*, XX, p. 36, 1902.

(2) Grüss, dans l'énoncé des résultats de ses recherches, paraît avoir été guidé surtout par des idées préconçues; ses expériences sont loin de justifier en effet les conclusions qu'il en tire. C'est ainsi que le mannose aurait été caractérisé à l'état d'osazone; or, trois sucres donnent la même osazone, ce sont le lévulose, le glucose et le mannose. Le composé dont la formation est caractéristique de la présence du mannose, ne saurait être la mannosazone, mais bien la mannosehydrazone.

(3) Zur Chemie der Pflanzenmembranen; *Zeitsch. f. phys. Chem.*, XIV, p. 227, 1889; XVI, p. 387, 1892.

(4) *Compte-rendu du IXe Congrès international de Pharmacie*, p. 454, Paris, 1900.

(5) Études des hydrates de carbone de réserve de quelques graines d'Ombellifères et de Cornées; *Thèse doct. univers.* (*Pharm.*), Paris, 1902.

(6) Sur la composition des hydrates de carbone de réserve de l'albumen de quelques Palmiers, *C.-R. Ac. Sc.*, CXXXV, p. 593, 1902.

Digitized by Google

excelsa Thunb., *Astrocaryum vulgare* Mart., *Œnocarpus Bacaba* Mart., *Erythea edulis* S. Wats, *Sagus Rumphii* Willd), a pu déceler, chez toutes les espèces examinées, la présence d'une petite proportion de galactanes facilement hydrolysables, à côté d'une proportion d'ailleurs infiniment supérieure de mannanes diversement condensées.

La présence simultanée des galactanes et des mannanes n'a cependant pu être constatée dans les graines d'*Asparagus officinalis* L. et de *Colchicum autumnale* L. (1), non plus que dans celles de plusieurs Liliacées étudiées à ce point de vue (2) : *Ruscus aculeatus* L., *Convallaria maialis* L., *Schœnocaulon officinale* A. Gr., *Allium Cepa* L., *Allium Porrum* L., *Asphodelus ramosus* L., var. *luteus*.

Toutes les graines qui ont été mentionnées jusqu'ici possèdent des albumens qui ne sont guère susceptibles de se ramollir ou de se gonfler au contact de l'eau, et ne peuvent, en tout cas, faire de mucilage avec cette dernière. Il en est tout autrement de certaines semences, comme celles de beaucoup de Légumineuses, dont l'albumen, en présence de l'eau, acquiert parfois un volume considérable par suite du gonflement et même dela gélification de ses membranes. Toutes les fois que de tels albumens ont été étudiés au point de vue chimique, on a pu constater qu'ils contenaient une proportion variable, mais toujours assez élevée, de galactanes, associées aux mannanes.

Müntz (3), en 1882, retira de la graine de Luzerne une gomme spéciale, qu'il considéra comme une espèce chimique définie, et qu'il appela *galactine*. Il établit que cette galactine, soluble dans l'eau, est insoluble dans l'alcool, et que, traitée à chaud par l'acide sulfurique étendu, elle donne du galactose — sucre qu'on n'avait obtenu avant lui qu'en partant du sucre de lait —, et un sucre qu'il ne put ni isoler à l'état cristallisé, ni déterminer. Celui-ci n'était autre que le mannose, sucre inconnu à l'époque de ces recherches.

Il est vrai que, dans l'esprit de Müntz, la galactine proviendrait du tégument de la graine. Si cependant on fait macérer pendant douze ou quinze heures les graines entières dans de l'eau chloro-

(1) H. Hérissey : Sur les hydrates de carbone entrant dans la composition de l'albumen des graines de Trèfle, d'Asperge et de Colchique ; *Compte-rendu du IXe Congrès international de Pharmacie*, p. 102, Paris, 1900.

(2) G. Dubat : Étude des hydrates de carbone de quelques graines de Liliacées ; *Thèse doct. univers. (Pharm.)*, Paris, 1902.

(3) Sur la galactine ; *Ann. de Chim. et de Phys.*, [5], XXVI, p. 121, 1882.

Digitized by Google

formée, le macéré obtenu ne donne, avec l'alcool, aucun précipité d'hydrate de carbone, ce qui montre déjà que la galactine ne se trouve pas dans les couches extérieures de ce tégument. D'autre part, tandis que la graine non germée et broyée donne avec l'eau un macéré visqueux, dont la galactine à l'état impur est précipitée par l'alcool, il en est tout autrement de la graine germée, dans laquelle la galactine a disparu ; et l'on peut voir, par une dissection, même grossière, que cette disparition coïncide avec la disparition presque complète de l'albumen. Il s'ensuit que la galactine fait partie, en réalité, de cet albumen dont elle constitue une matière de réserve.

En reprenant l'étude de la galactine de Müntz, nous avons montré, M. Bourquelot et moi (1), que cet hydrate de carbone est en réalité une mannogalactane qui nous a fourni, à l'hydrolyse, des poids sensiblement égaux de mannose et de galactose : 2 gr., 416 d'hydrate de carbone de la Luzerne, nous ont donné 2 gr., 38 de sucres réducteurs (exprimés en dextrose) ; l'analyse du mélange réducteur accusait la présence de 1 gr., 223 de mannose et de 1 gr., 178 de galactose.

2 gr., 510 d'un hydrate de carbone analogue, retiré des graines de Fenugrec nous ont fourni, à l'hydrolyse, 2 gr., 50 de sucres réducteurs (exprimés en dextrose), renfermant 1 gr., 249 de mannose et 0 gr., 978 de galactose.

L'étude de la graine de *Trifolium repens* L. m'a fourni des résultats du même ordre (2); c'est ainsi que 2 gr., 546 d'un produit retiré de cette graine, hydrolysé à l'autoclave à 110°, pendant deux heures, dans 100 cc. d'eau acidulée par 2 gr., 50 d'acide sulfurique, ont fourni 2 gr., 419 de sucres réducteurs (exprimés en dextrose), contenant du mannose et du galactose. Le dosage de ces derniers sucres a donné, pour la totalité, 1 gr., 325 de mannose et 0 gr., 844 de galactose.

C'est à la suite de nos recherches antérieures sur l'albumen de

(1) Em. Bourquelot et H. Hérissey : Les hydrates de carbone de réserve des graines de Luzerne et de Fenugrec; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXX, p. 731, 1900; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], XI, p. 589, 1900.

(2) H. Hérissey : Sur l'hydrate de carbone de réserve de la graine de *Trifolium repens*; *C.-R. Ac. Sc*, CXXX, p. 1719, 1900.

Digitized by Google

la graine de Caroubier (1) que nous avions été amenés à envisager la composition chimique des albumens des graines de Luzerne, de Fenugrec et de Trèfle.

L'albumen du Caroubier, *Ceratonia Siliqua* L., avait été étudié en 1897 par J. Effront (2) et par H. Marlière (3). Effront le trouva composé pour les quatre cinquièmes environ par un hydrate de carbone mucilagineux qu'il appelle *caroubine*. La caroubine, traitée à chaud par l'acide sulfurique étendu, lui fournit un produit sucré qu'il considéra comme une nouvelle espèce de glucose et qu'il appela *caroubinose*. Ce sucre ne put d'ailleurs être obtenu que sous la forme d'une substance amorphe, non cristallisable, soluble dans l'eau et l'alcool ; son pouvoir rotatoire α_D était égal à + 24°.

Marlière constata également que l'albumen de la graine de Caroubier est composé en grande partie par un mucilage spécial ; et il soumit, lui aussi, ce mucilage à l'hydrolyse par les acides étendus ; mais ses conclusions furent tout autres que celles d'Effront : « Il est hors de contestation, dit-il, que le mucilage de *Ceratonia Siliqua*, hydraté par les acides, renferme du dextrose, du lévulose et du galactose. » Il ajoute, d'autre part, qu'il n'a pu, en traitant à froid ce mélange sucré par l'acétate de phénylhydrazine, obtenir l'hydrazone caractéristique du mannose, « ce qui exclurait toute idée que le mannose pût exister à côté des sucres précédents.» Cette dernière conclusion est complètement entachée d'erreur, car A. van Ekenstein (4), quelques mois plus tard, retirait des produits d'hydrolyse de la caroubine du mannose cristallisé.

En réalité, les hydrates de carbone, qui représentent, d'après Effront, les quatre cinquièmes environ de l'albumen de la graine de Caroubier, sont à peu près exclusivement constitués par un mélange de mannanes et de galactanes à des états plus ou moins condensés.

(1) Em. Bourquelot et H. Hérissey : Sur la composition de l'albumen de la graine de Caroubier; production de galactose et de mannose par hydrolyse; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXIX, p. 228 et 391, 1899; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], X, p. 153 et 249, 1899.

(2) Sur un nouvel hydrate de carbone, la caroubine; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXV, p. 38, 1897. Sur une nouvelle enzyme hydrolytique, « la caroubinase »; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXV, p. 116, 1897. Sur la caroubinose, *C.-R. Ac. Sc.*, CXXV, p. 309, 1897.

(3) Sur la graine et spécialement l'endosperme du *Ceratonia Siliqua*; *La Cellule*, XIII, p. 7, 1897.

(4) Sur la caroubinose et sur la d. mannose; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXV, p. 719, 1897.

Digitized by Google

Une grande partie des mannanes et la totalité des galactanes sont hydrolysables par l'acide sulfurique étendu ; le reste des mannanes n'est attaquable que par l'acide sulfurique concentré.

L'albumen de la graine de Canéficier (1) présente une composition analogue. Les hydrates de carbone qu'il contient sont composés, pour une grande partie, d'anhydrides du mannose et du galactose, car on obtient ces deux sucres en quantité notable lorsqu'on hydrolyse cet albumen par l'acide sulfurique étendu à 3 pour 100 Sur 100 gr. de matières réductrices obtenues dans cette hydrolyse (exprimées en dextrose), on a trouvé 53 gr., 9 de mannose et 23 gr., 4 de galactose. Il reste donc 22 gr., 5 de matières réductrices, constituées peut-être par d'autres sucres, du dextrose, par exemple, et peut-être aussi par des matières réductrices non sucrées. On voit que le rapport du galactose au mannose est sensiblement 3/7. Dans les mêmes conditions d'opération, on avait trouvé avec l'albumen de la graine de Caroubier le rapport approché 1/4.

A la suite des résultats fournis par l'étude des albumens de Caroubier et de Canéficier, il nous faut mentionner les recherches inspirées de cette étude que Goret (2) a instituées dans le but d'établir la composition chimique des albumens des graines de *Gleditschia triacanthos* L., de *Medicago lupulina* L., de *Lotus corniculatus* L., de *Melilotus leucantha* Koch et d'*Indigofera tinctoria* L. Les hydrates de carbone de réserve de toutes ces graines sont constitués en presque totalité par un mélange de mannanes et de galactanes et, comme tels, susceptibles de fournir du mannose et du galactose sous l'action des acides minéraux étendus et bouillants.

Dans les graines de certains groupes végétaux, celles des Strychnées en particulier, les galactanes peuvent apparaître en très forte proportion comme produits de réserve de l'albumen. C'est ainsi que 100 grammes d'albumen sec de *Strychnos Ignatii* Berg., traités par l'acide sulfurique à 3 0/0, ont fourni 59 gr., 60 de sucres réducteurs, dont 27 gr., 05 de mannose et 31 gr., 05 de galactose. Dans les mêmes conditions, 100 grammes d'albumen de *Strychnos*

(1) Em. Bourquelot : Étude chimique et physiologique de la graine de Canéficier (*Cassia fistula* L.); *Vol. jubil. de la Soc. biol.*, p. 388, 1900.

(2) Étude chimique et physiologique de quelques albumens cornés de graines de Légumineuses; *Thèse doct. univers.* (*Pharmacie*), Paris, 1901.

Digitized by Google

Nux vomica L., ont donné 54 gr., 30 de sucres réducteurs dont 11 gr., 02 de mannose et 38 gr., 45 de galactose (1)

L'existence des mannanes chez les végétaux a été parfois démontrée ailleurs que dans les graines. Si nous envisageons seulement les mannanes qui, comme celles des semences, paraissent nettement jouer le rôle de matières de réserve, il nous faut rappeler les recherches de Gans (2) sur la nature chimique du mucilage de Salep.

On donne, comme on sait, le nom de *salep* aux tubercules desséchés de diverses plantes de la famille des Orchidées. Parmi un grand nombre d'espèces de cette famille dont les tubercules semblent être utilisés, on peut citer : l'*Orchis mascula* L., l'*Orchis Morio* L., l'*Orchis maculata* L., l'*Ophrys muscifera* Huds., l'*Ophrys apifera* Huds., l'*Ophrys arachnites* Hoffm., l'*Orchis pyramidalis* L., et d'autres espèces encore appartenant par exemple au genre *Eulophia*.

Le salep, mis en contact avec de l'eau, se gonfle considérablement, grâce à la présence d'un principe mucilagineux très peu soluble. En traitant ce mucilage par les acides minéraux étendus, Gans obtint précisément, entre autres produits, une matière sucrée qu'il identifia avec le mannose, qui venait d'être obtenu dans l'oxydation de la mannite par l'acide azotique. Les résultats de Gans furent confirmés d'ailleurs par Fischer et Hirschberger. Ces auteurs, hydrolysant le salep commercial pulvérisé, par 6 fois son poids d'acide sulfurique à 3 pour 100, pendant 4 heures au bain-marie bouillant, purent isoler du produit de la réaction, par l'acétate de phénylhydrazine, un poids de mannosehydrazone égal à 5 ou 6 pour 100 du salep primitif.

Ce qu'il faut surtout dégager des faits rapportés dans ce chapitre sous une forme aussi résumée que possible, c'est la diversité que présentent respectivement entre elles les mannanes et les galactanes d'origine différente. En n'envisageant ces matières de réserve qu'au

(1) Em. Bourquelot et J. Laurent : Sur la nature des hydrates de carbone de réserve contenus dans l'albumen de la Fève de St-Ignace et de la Noix vomique ; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXX, p. 1411, 1900; *Journ. Pharm. et Chim.* [6], XII, p. 313, 1900.

(2) R. Gans, W.-E. Stone et B. Tollens : Ueber Zuckersaürebildung als Reaction auf Dextrose in Raffinose und anderen Kohlenhydraten, und ihre Furfurolbildung als Reaction auf Arabinose; *Ber. d. d. chem.* Ges., XXI, p. 2148, 1888.

R. Gans : Ueber die Bildung von Zuckersaüre aus Dextrose enthaltenden Stoffe, besonders aus Raffinose, und über die Untersuchung einiger Pflanzenschleimarten; *Inaugural-Dissertation*, Göttingen, 1888.

Digitized by Google

point de vue de leur solubilité dans l'eau, on trouve, par exemple, tous les intermédiaires possibles, depuis les produits susceptibles de se dissoudre intégralement, ou au moins de donner un mucilage, mannanes et galactanes des Légumineuses, jusqu'aux produits totalement insolubles, d'une véritable consistance de pierre, hydrates de carbone de l'albumen des Palmiers. La façon de se comporter dans l'hydrolyse par les acides minéraux étendus et bouillants varie nécessairement suivant les mannanes et les galactanes considérées ; il est même certains de ces principes qui ne peuvent être saccharifiés que sous l'influence d'acides concentrés, de la même façon que la cellulose (1).

On conçoit en tous cas le rôle considérable que doivent jouer les mannanes et les galactanes, comme matières de réserve chez les végétaux. Leur utilisation physiologique ne peut être réalisée sans qu'interviennent des transformations préalables effectuées sous l'influence d'agents sécrétés par la cellule vivante. L'étude du mécanisme des transformations destinées à rendre assimilables les mannanes et les galactanes, ou pour mieux dire, certaines mannanes et certaines galactanes, va dès maintenant nous occuper.

Chapitre II

TRANSFORMATION DIASTASIQUE DES MANNANES ET DES GALACTANES (2)

A la suite de nos recherches chimiques sur l'albumen de la graine de Caroubier, nous étions arrivés, M. Bourquelot et moi, à cette conclusion qu'il y a une différence essentielle, au point de vue de la constitution chimique, entre l'albumen de la graine de Caroubier

(1) J'ai dû me borner à n'indiquer que les connaissances strictement nécessaires à la compréhension des recherches que j'expose dans la suite du présent travail. Le lecteur désireux d'informations plus approfondies pourra se reporter aux mémoires cités. Il se fera ainsi une idée aussi exacte que possible de l'état actuel de la question au point de vue chimique.

(2) Em. Bourquelot et H. Hérissey : Germination de la graine de Caroubier ; production de mannose par un ferment soluble; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXIX, p. 614. 1899; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], X, p. 438, 1899.

Em. Bourquelot et H. Hérissey : Sur les ferments solubles produits pendant la

Digitized by Google

(albumen corné) et celui du Blé par exemple (albumen amylacé) qui, traité à chaud par l'acide sulfurique étendu, donne du dextrose.

Cette même différence s'accuserait-elle dans la germination des deux graines ? En d'autres termes, alors que, pendant la germination et sous l'influence des ferments solubles qu'élabore l'embryon, l'amidon de l'albumen du blé éprouve les mêmes transformations que lorsqu'on le traite par l'acide sulfurique étendu, c'est-à-dire se transforme en dextrose, l'hydrate de carbone qui constitue la majeure partie des matières de réserve de l'albumen corné de la graine de Caroubier serait-il transformé en mannose et en galactose.

Effront avait remarqué qu'il se forme pendant la germination des graines de Caroubier une diastase susceptible de liquéfier et même de saccharifier l'hydrate de carbone qu'il avait retiré de l'albumen et qu'il avait appelé *caroubine*, le considérant comme une espèce chimique déterminée. Il avait donné à cette diastase le nom de *caroubinase*. Effront avait complètement négligé l'étude des produits résultant de l'action de cette diastase. Il affirmait toutefois que « le sucre formé par l'action de l'enzyme n'est pas semblable au produit obtenu par les acides ». En présence de cette affirmation, a priori tout à fait surprenante, l'étude physiologique de la germination de la graine de Caroubier était à reprendre complètement. Cette étude nous a conduit à des résultats de la plus grande netteté.

Ce n'est pas ici le lieu de rapporter toutes les recherches que M. Bourquelot et moi avons instituées dans le but d'étudier la

germination par les graines à albumen corné ; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXX, p. 40, 1900 ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], XI, p. 104. 1900.

Em. Bourquelot et H. Hérissey : Sur l'individualité de la *séminase*, ferment soluble sécrété par les graines de Légumineuses à albumen corné pendant la germination ; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXX, p. 340, 1900 ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], XI, p. 357, 1900.

Em. Bourquelot et H. Hérissey : Sur la présence de séminase dans les graines à albumen corné au repos ; *C.-R. Ac. Sc.* CXXXI, p. 903, 1900.

H. Hérissey : Influence du fluorure de sodium dans la saccharification par la séminase des hydrates de carbone contenus dans les albumens cornés des graines de Légumineuses ; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXXIII, p. 49, 1901.

H. Hérissey : Sur la digestion de la mannane des tubercules d'Orchidées ; *C.-R. Ac Sc.*, CXXXIV, p. 721, 1902.

H Hérissey : Isolement du galactose cristallisé dans les produits de digestion, par la séminase, des galactanes des albumens cornés ; *Bull. Soc. Biol.*, LIV, p. 1174, 1902.

Digitized by Google

digestion des hydrates de carbone des albumens cornés ; je ne reviendrai le plus souvent sur ces essais antérieurs que pour en énoncer seulement les résultats. Néanmoins, pour la compréhension du sujet qui nous occupe et pour donner au lecteur une idée précise de la méthode expérimentale qui a été suivie dans cet ordre d'études, j'ai cru devoir retenir avec quelque détail certaines expériences fondamentales, choisies en particulier parmi celles réalisées avec les ferments de la graine de Caroubier ou ceux de la graine de Fenugrec.

I. — Action de ferments d'origine différente sur les hydrates de carbone d'un même albumen (albumen de la graine de Caroubier).

Recherches avec les ferments du Caroubier. — Pour se procurer l'albumen nécessaire aux expériences, il suffit de faire tremper les graines de Caroubier dans l'eau froide, en ayant soin de renouveler l'eau deux fois par jour. Au bout de 4 ou 5 jours, du moins quand la température ambiante est d'environ 20°, les graines sont suffisamment gonflées pour qu'on puisse à la main en séparer l'albumen. Si l'on veut du reste obtenir que les graines soient toutes régulièrement gonflées dans le même temps, il suffit, avant de les plonger dans l'eau, de les comprimer légèrement à l'aide d'une pince coupante, de manière à déterminer une solution de continuité dans le tégument de la graine ; 1000 gr. de graines non choisies, c'est-à-dire telles que les fournit le commerce, donnent environ 940 gr. d'albumen gonflé. Ce dernier est séché complètement à l'étuve à une douce chaleur, puis passé au moulin. On obtient ainsi 400 à 420 gr. de produit sec. Si l'on traite 4 à 5 gr. de cet albumen par 100 cc. d'eau, au bain-marie bouillant, pendant quelques minutes, on obtient après refroidissement une gelée solide très consistante.

Pour faire germer les graines de Caroubier, on commence par les faire gonfler complètement comme pour en détacher l'albumen, on choisit ensuite les plus belles, puis on les place dans une cuvette entre deux feuilles de coton hydrophile mouillé. On recouvre imparfaitement d'une plaque de verre et on met le tout dans une étuve dont la température est maintenue entre 25 à 30°. La germination commence bientôt et se continue régulièrement, quoiqu'assez

Digitized by Google

lentement. Il n'est du reste pas nécessaire de laisser les embryons en contact avec l'albumen ; on peut les isoler, et opérer avec eux comme avec les graines elles-mêmes ; la germination, du moins dans les premiers temps, se fait tout aussi régulièrement. Nos recherches ont porté sur des embryons dont la radicule avait atteint 3 et même 4 cent. de longueur.

Série d'essais n° 1. — Cette série a porté sur la matière retirée d'embryons ayant germé hors de la graine, en opérant comme on fait d'ordinaire pour la préparation des ferments solubles.

On a trituré 200 grammes d'embryons germés et frais avec 100 grammes de sable lavé l'acide chlorhydrique, à l'eau distillée et séché; on a ajouté 300 cc. d'eau chloroformée et laissé macérer pendant 20 heures. On a exprimé, filtré et ajouté au filtrat 3 volumes d'alcool à 95°. Le précipité a été recueilli sur un filtre, agité avec de l'alcool à 95°, égoutté, agité de nouveau avec de l'éther, essoré et séché dans le vide sulfurique. On a ainsi obtenu dans une opération 3 gr., 60 de produit sec.

Ce produit une fois obtenu, on a préparé 4 empois d'albumen composés chacun de 10 gr. d'albumen sec pour 200 cc. d'eau. L'albumen était placé dans un flacon de 250 cc., recouvert de 200 cc. d'eau froide et le tout porté au bain-marie ; on y laissait le flacon au moins 5 minutes à partir du moment où l'eau du bain-marie commençait à entrer en ébullition ; on se gardait d'agiter le flacon, de façon à laisser à la surface de l'albumen gonflé en empois une légère couche de liquide destiné à faciliter le mélange des substances qu'on ajoutait au mélange complètement refroidi, ou mieux avant la prise en gelée complète, alors que le refroidissement était assez avancé (40 à 45°) pour qu'il n'y ait pas à craindre de destruction de ferments par la chaleur.

4 empois d'albumen préparé de la façon qui vient d'être décrite ont été étiquetés A, B, C, D. On a ajouté :

à A, 2 cc. de chloroforme ;

à B, 2 cc. de chloroforme, 2 gr. de carbonate de chaux et 0 gr., 75 du produit précipité de la macération d'embryons germés, préalablement chauffé à 100° avec un peu d'eau ;

à C, 2 cc. de chloroforme, 2 gr. de carbonate de chaux et 0 gr., 75 de produit précipité ;

Digitized by Google

à D, 2 cc. de chloroforme, 0 gr., 03 d'acide formique et 0 gr., 75 de produit précipité.

Le chloroforme a été ajouté pour empêcher l'envahissement des mélanges par les bactéries et les moisissures.

Les quatre flacons ont été placés dans une étuve chauffée à 35°. Les mélanges A et B sont restés solides et l'étaient encore après 3 semaines ; on pouvait retourner complètement les flacons sans en détacher la masse d'empois qu'ils contenaient. Au contraire, les mélanges C et D se sont lentement liquéfiés.

Cette expérience montre qu'on peut retirer des embryons de Caroubier, même mis à germer hors de la graine, une matière liquéfiant l'albumen de cette graine. Cette matière précipitable par l'alcool et détruite par la chaleur doit être considérée comme un ferment soluble ; son activité est faible.

Série d'essais n° 2. — Dans cette deuxième série, on a employé le mélange obtenu en triturant soigneusement avec du sable des embryons desséchés à basse température dont la germination s'était faite aussi en dehors de la graine.

On a opéré exactement de la même façon que pour la série n° 1, en remplaçant seulement par 2 gr. d'embryons broyés, dans les mélanges correspondants, les 0 gr., 75 de produit précipité. Les résultats ont été les mêmes que précédemment, mais beaucoup plus significatifs. Les mélanges C et D se sont suffisamment liquéfiés pour qu'il ait été possible de les soumettre à la filtration. L'analyse des liquides filtrés y accusait la présence de sucres réducteurs. L'expérience avait duré 13 jours ($t = 35°$).

Série d'essais n° 3. — Dans cette troisième série d'essais, on a employé des embryons qui avaient germé dans la graine même, sans cesser par conséquent d'être en contact avec l'albumen. L'action a été plus nette encore que dans les essais n° 2. L'empois d'albumen s'est liquéfié plus rapidement ; il s'est transformé en un liquide limpide au fond duquel s'étaient rassemblés des débris cellulaires légers, comme cela a lieu dans l'action de la diastase sur l'empois d'amidon. Ce liquide filtrait rapidement et réduisait abondamment la liqueur cupro-potassique.

Série d'essais n° 4. — Production de mannose et de galactose dans l'action des ferments de la graine de Caroubier sur l'albumen de cette

Digitized by Google

graine. Isolement du mannose. — Même dans les essais où l'action du ferment s'était révélee la plus nette, nous avions constaté que la liquéfaction de l'albumen et surtout la production de sucre avaient lieu assez lentement. Aussi, désirant avoir à notre disposition une quantité de sucre suffisante pour l'analyse, nous sommes nous résolus à faire un essai de longue durée, portant sur une assez forte proportion d'albumen.

On a opéré sur l'albumen de 250 gr. de graines (100 gr. environ). Cet albumen, gonflé dans l'eau, a été additionné de 1000 cc. d'eau distillée, et le tout a été porté quelque temps à 110°, à l'autoclave, de façon à obtenir un mélange homogène. A ce mélange refroidi à 40°, on a ajouté 10 gr. de poudre d'embryons germés, desséchés à l'air. Ces embryons avaient été à mis à germer en dehors de la graine. On a saturé de chloroforme et abandonné le tout à la température du laboratoire (18-20°), pendant sept semaines, en ayant soin d'agiter dans les premiers temps.

A part quelques grumeaux, le mélange s'était complètement liquéfié. Il a été filtré au papier. Le liquide obtenu, très limpide et à peine teinté de jaune, a été additionné de 2 volumes d'alcool à 95° ; il s'est fait un précipité blanc volumineux qui a été jeté sur un filtre et lavé avec de l'alcool à 80°.

Les liqueurs alcooliques ont été rassemblées ; on a retiré l'alcool par distillation, après quoi on a concentré le résidu à 50 cc. Ces 50 cc. de liquide renfermaient 6 gr., 90 de sucres réducteurs (exprimés en dextrose).

De ces 50 cc. on a prélevé d'abord 20 cc., que l'on a additionnés de 80 cc. d'alcool à 75°, de façon à séparer tout produit non saccharifié ; on a lavé le précipité avec de l'alcool à 80° : les liqueurs ont été évaporées en extrait, et ce dernier a étére pris par 33 cc. d'acide nitrique dilué (d = 1,15). La solution acide a été ensuite évaporée au tiers au bain-marie, conformément aux indications de Kent et Tollens pour l'obtention de l'acide mucique (1), dans le but de rechercher et de doser le galactose. Pendant le refroidissement, un précipité d'acide mucique s'est déposé qui, après lavage et dessiccation, pesait 0 gr., 37, soit 0 gr., 93 pour les 50 cc., ce qui correspond à 1 gr., 24 de *galactose* (2).

(1) Tollens : *Hydrates de carbone, trad. Bourgeois*, p. 375, Paris, 1896.

(2) 1 gr. de galactose donne dans ces conditions sensiblement 0 gr., 75 d'acide mucique.

Digitized by Google

En second lieu, on a ajouté à 10 cc. du liquide sucré un mélange composé de 2 cc. de phénylhydrazine, 2 cc. d'acide acétique cristallisable et 8 cc. d'eau. Il s'est fait un précipité cristallisé présentant l'aspect caractéristique de la mannosehydrazone. Ce précipité a été recueilli, lavé et séché, en observant toutes les précautions usitées dans cette opération (1). Il pesait 1 gr., 40, ce qui correspond pour 50 cc. à 7 gr. de produit et à 4 gr., 67 de mannose.

Pour nous assurer qu'il s'agissait bien de l'hydrazone du mannose, on a traité la totalité du liquide filtré restant par l'acétate de phénylhydrazine, réuni les hydrazones obtenues et régénéré le sucre à l'aide de l'aldéhyde benzoïque (2). On a pu ainsi obtenir, en petite quantité, du *mannose cristallisé*.

Il ressort de cette expérience que, pendant la germination de la graine de Caroubier, l'embryon produit un ferment soluble agissant sur l'albumen corné de cette graine, à la façon de la diastase sur les albumens amylacés. Il le liquéfie d'abord, puis le saccharifie, en donnant naissance à du mannose et à du galactose, ainsi que le fait l'acide sulfurique étendu et chaud.

Je reviendrai plus loin sur la caractérisation de mannose obtenu par action diastasique. Il suffit, pour le moment, de savoir qu'il a été isolé, à l'état cristallisé, dès le début de ces recherches. Il n'en a pas été de même du galactose dont l'extraction, beaucoup plus pénible, n'a été réalisée que bien plus tard.

Recherches effectuées avec des ferments autres que ceux de la graine de Caroubier. — La graine de Caroubier étant un type de graine à albumen corné, il y avait lieu de se demander si les graines à albumen corné produisent, pendant la germination, un ferment soluble semblable à celui dont nous venons de constater la présence dans la graine de Caroubier. Les expériences instituées pour répondre à cette question l'ont résolue dans un sens pleinement affirmatif.

(1) Em. Bourquelot et H. Hérissey : Sur le dosage du mannose mélangé à d'autres sucres; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXIX, p. 339, 1899; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], X, p. 206, 1899.

(2) On trouvera la description de tous les détails que comporte cette opération dans l'article déjà cité : Sur la composition de l'albumen de la graine de Caroubier; production de galactose et de mannose par hydrolyse; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], X, p. 153, 1899.

Digitized by Google

Nous avons surtout choisi, comme sujets d'expérimentation, des graines germant rapidement, dans l'espoir, qui s'est réalisé du reste, que ces graines, pendant la germination, produiraient des erments très actifs.

Graines de Fenugrec. — Four faire germer les graines de Fenugrec, on opère comme il suit : les graines sont mises à tremper dans l'eau froide pendant 12 heures ; on les fait égoutter, puis on les étale en couche de 2 à 3 cm. d'épaisseur dans une cuvette de porcelaine. On met, par dessus, une feuille de coton hydrophile mouillé ; on recouvre imparfaitement d'une plaque de verre, de telle sorte que l'air de la cuvette puisse se renouveler lentement et on porte dans une étuve dont la température est maintenue entre 25° et 30°. La germination commence dans les 12 heures qui suivent ; on peut la considérer comme suffisante quand le radicule a atteint une longueur de 2 cm., 5 environ, ce qui a lieu vers la fin du 3e jour.

Pour en retirer les ferments, on triture les graines germées dans un mortier, de façon à en faire une pâte que l'on met macérer pendant 12 heures dans son poids d'eau chloroformée ; on exprime, on filtre et on ajoute au liquide filtré 3 vol. d'alcool à 95°. Le précipité formé est recueilli sur un filtre, agité avec de l'alcool à 95° ; égoutté, agité avec de l'éther et finalement desséché dans le vide. On peut aussi, avec grand avantage, se servir simplement, comme solution de ferments, du macéré de graines germées filtré après expression, non précipité par l'alcool.

Expérience I. — Cette expérience a été faite avec le ferment précipité du Fenugrec. Un empois préparé avec 5 gr. d'albumen de Caroubier et 100 cc. d'eau a été additionné de 0 gr., 50 de ferment et de 1 cc. de chloroforme puis abandonné à l'étuve à 30°-35°, pendant 5 jours. La liquéfaction avait commencé dès l'addition du ferment et s'était continuée progressivement. Le résidu non digéré, lavé à l'eau et à l'alcool 95°, puis séché à 100°, pesait 1 gr., 45. 30 cc. du filtrat ont été précipités par 3 volumes d'alcool à 95°. 100 cc. (= 25 cc. de liquide initial) de liquide alcoolique filtré ont été évaporés de façon à chasser l'alcool et le résidu amené à 25 cc. avec de l'eau distillée. La liqueur obtenue contenait, pour 100 cc., 1 gr., 13 de matières réductrices exprimées en dextrose.

Expérience II. — Dans un flacon de 750 cc. à large ouverture, on

Digitized by Google

a mis successivement 25 gr. d'albumen passé au moulin et desséché, puis 450 cc. d'eau distillée. On a chauffé au bain-marie bouillant, en agitant fréquemment, jusqu'à ce que la masse ait été transformée en empois. On a laissé refroidir, et lorsque le refroidissement a été jugé suffisant (30° à 40°), on a ajouté 50 cc. de macéré de Fenugrec germé et 5 cc. de chloroforme, de telle sorte qu'on a eu le mélange suivant :

Albumen desséché à l'air.	25 gr.
Eau distillée.	450 cc.
Macéré de Fenugrec	50 cc.
Chloroforme.	5 cc.

Ce mélange, dont le volume total était de 525 cc., a été placé dans une étuve dont la température était maintenue entre 30° et 35°.

La liquéfaction de l'empois a commencé presque immédiatement, se produisant comme celle d'un empois d'amidon traité par la diastase. Dès le lendemain, le mélange s'était partagé en un liquide très fluide occupant la partie supérieure et en un dépôt composé de particules solides très mobiles. Après 13 jours, on a procédé à la filtration du liquide et à son analyse.

Par la filtration, on a recueilli les particules d'albumen non attaquées, particules composées de débris de membranes cellulaires. Après lavage et dessiccation, elles pesaient 1 gr., 53. En réalité, ce poids est un peu inférieur à celui du résidu total, car de petites quantités de celui-ci avaient été perdues au cours de filtrations partielles nécessitées par des examens polarimétriques effectués pendant l'expérience. En tout cas, le résidu ne dépassait pas 6 à 8 0/0 de l'albumen traité.

Le liquide filtré (430 cc.) a d'abord été concentré au cinquième de son volume. Le résidu a été additionné de deux volumes d'alcool à 95°, ce qui a donné un précipité. On a filtré la solution alcoolique qui a été ensuite évaporée à 45 cc. On a précipité ce nouveau résidu par l'alcool, filtré et évaporé pour chasser l'alcool. Finalement, dans le liquide restant étendu à un volume convenable, on a dosé les sucres réducteurs. La quantité de ceux-ci, exprimés en dextrose, s'élevait pour la totalité du produit, c'est-à-dire pour les 525 cc. primitifs, à 14 gr., 53. Or un mélange composé de 450 cc. d'eau, 50 cc. de macéré de Fenugrec germé et 5 cc. de chloroforme, conservé pendant le même temps et dans les mêmes conditions que le

Digitized by Google

mélange contenant l'albumen, renfermait 1 gr., 39 de sucres réducteurs.

Donc la quantité de ces sucres résultant réellement de l'action fermentaire était égale à 13 gr., 14 ou à 52,54 pour 100.

Comme on le voit, si l'hydrolyse des hydrates de carbone de la graine de Caroubier n'a pas été jusqu'au bout, du moins était-elle très avancée au moment où on a fait les analyses : 6 à 8 pour 100 seulement de l'albumen avaient résisté à la liquéfaction ; le reste était transformé en des sortes de dextrines ou produits intermédiaires précipitables par l'alcool (40 pour 100 environ) et en sucres (52 à 53 pour 100).

Des essais quantitatifs ayant montré que dans ces derniers il y avait du mannose et du galactose, le dosage de ceux-ci s'est effectué suivant les méthodes accoutumées. Nous avons pu ainsi déceler la présence, dans la totalité du produit, de 8 gr., 06 de mannose et de 3 gr., 04 de galactose, ce qui représente à un cinquième près le poids des sucres réducteurs trouvés.

Expérience III. — Cette expérience a été conduite de la même façon que la précédente, avec ces différences toutefois que l'albumen n'avait pas été desséché avant d'être transformé en empois et que le chloroforme, comme antiseptique, avait été remplacé par le florure de sodium, à la dose de 1 pour 100.

Le mélange soumis à l'essai était le suivant :

Albumen (exprimé en matière sèche) .	20 gr.
Eau distillée.	430 cc,
Macéré de Fenugrec germé	50 cc.
Fluorure de sodium	5 gr.

L'empois s'est fluidifié rapidement avec formation d'un dépôt de particules solides. Après 17 jours à 30-35°, on a procédé au dosage du sucre réducteur, en opérant directement sur le liquide filtré, c'est-à-dire sans précipitation préalable par l'alcool. On a trouvé 12 gr., 02 de matières réductrices exprimées en dextrose ; 50 cc. de macéré de Fenugrec, conservés pendant le même temps et dans les mêmes conditions, contenaient 0 gr., 96 de sucres réducteurs. Il suit de là que les matières réductrices formées pendant la réaction équivalaient à 11 gr., 06. Un dosage à la phénylhydrazine a donné d'autre part, pour la totalité des sucres formés, 5 gr., 57 de mannose.

Un essai témoin, préparé comme le mélange fermentaire ci-

Digitized by Google

dessus, mais dans lequel le macéré de Fenugrec avait été remplacé par de l'eau, n'avait subi aucune liquéfaction.

Expériences diverses. — D'autres expériences ont été faites, soit dans les mêmes conditions que ci-dessus, soit en opérant avec d'autres antiseptiques comme le thymol ou le phénol. Dans chaque cas, on a pu constater qu'il s'était formé du mannose et du galactose. On n'a observé de différence que dans la rapidité de l'action, variable suivant les antiseptiques ajoutés. Avec le thymol et surtout avec le phénol, l'action fermentaire est beaucoup plus lente et se continue moins longtemps.

Graine de Luzerne (1). — La germination des graines de Luzerne s'obtient facilement en opérant comme pour la graine de Fenugrec. Elle se fait même plus rapidement et plus régulièrement, ce qui fait que la graine de Luzerne a constitué la source très avantageuse d'une des matières premières les plus importantes pour une grande partie de nos recherches.

Après un trempage de 6 à 8 heures dans l'eau et, comme nous le verrons plus loin, un séjour de 48 heures au plus dans l'étuve à 25°-30°, les germes peuvent être employés à la façon de ceux de Fenugrec. Ils donnent alors des macérations très actives dont on peut précipiter le ferment par l'alcool, ou plus simplement qu'on peut employer telles quelles.

On a fait plusieurs séries d'expériences, les unes avec le ferment précipité, les autres avec les macérations de graines germées. Ces expériences ayant été conduites comme celles décrites à propos du Fenugrec, il serait tout à fait fastidieux d'en exposer le détail. Qu'il suffise, pour le moment, de dire que ces expériences ont conduit à des résultats analogues à ceux obtenus avec le Fenugrec. Les ferments de la graine de Luzerne déterminent la liquéfaction et la saccharification de l'albumen de la graine de Caroubier et, dans le mélange fermentaire, on peut caractériser à la façon ordinaire la présence du mannose et du galactose.

Dans des recherches fréquemment répétées, il n'est pas nécessaire de préparer pour chaque expérience de nouvelles germinations de graines de Luzerne. Il est un procédé extrêmement pratique qui donne d'excellents résultats : les graines de Luzerne, après

(1) Dans tous les essais pratiqués avec cette graine, on a toujours utilisé la Luzerne dite de Provence.

Digitized by Google

48 heures de germination, sont étendues sur une grande surface et séchées à une douce température (au-dessous de 45°). Les germes complètement secs et devenus friables sont passés au moulin puis enfermés dans un flacon bien bouché. On obtient ainsi un produit en toute façon comparable au malt d'orge touraillé ; pour l'utiliser, on peut en préparer des macérations aqueuses ou même l'ajouter tel quel aux mélanges dans lesquelles on veut mettre en évidence ses propriétés fermentaires.

Graines de Genêt commun. — Les graines de Genêt germent mieux à la température ordinaire qu'à une température plus élevée ; elles germent d'ailleurs plus lentement que les graines de Fenugrec et de Luzerne. Dans nos recherches, on a fait durer la trempe pendant 36 heures et la germination pendant 10 jours à 15-18°. 100 gr. de germes frais de Genêt ont été pilés et mis à macérer pendant 20 heures dans 100 cc. d'eau additionnés de 2 gr. de fluorure de sodium. On a exprimé et filtré.

10 cc. de la solution fermentaire ainsi obtenue ont été mélangés à un empois contenant 5 gr. d'albumen de Caroubier pour 90 cc. d'eau fluorée au centième. On a maintenu le mélange à 30°-35° pendant 25 heures. Il était complètement fluide et filtrait rapidement ; il s'était formé 1 gr., 06 de matières réductrices exprimées en dextrose. De plus, le liquide filtré donnait, par addition d'acétate de phénylhydrazine, un précipité assez abondant de mannose-hydrazone, ce qui indique qu'il renfermait du mannose.

On a encore fait agir sur l'albumen du Caroubier les ferments d'autres graines de Légumineuses, comme celles de Genêt d'Espagne et de Robinier Faux-Acacia. On employait la graine elle-même germée, séchée à une douce chaleur (40 et 45°) et pulvérisée. On a obtenu rapidement à 30°-35° la liquéfaction et la saccharification de l'albumen mis en œuvre.

Tous ces faits nous permettent, dès à présent, d'admettre sans contredit que les graines de Légumineuses renferment, au moins au moment de la germination, des ferments capables de transformer en mannose et galactose les mannanes et galactanes de l'albumen du Caroubier.

Ces ferments peuvent du reste se retrouver chez des familles tout à fait différentes.

Digitized by Google

Graines de *Phœnix canariensis*. Hort (1). — La germination de ces graines, lorsqu'elles sont récentes, s'obtient facilement en les plaçant dans une cuvette, entre deux feuilles de coton hydrophile mouillé, et en les maintenant à la température de 25°. Il faut seulement veiller à ce que le coton reste toujours humide. Dans mes expériences sur l'albumen de Caroubier, j'ai employé des plantules qui, après un mois de germination, avaient atteint une longueur de 6 à 8 centimètres. J'ai utilisé seulement comme source de ferments les cotylédons encore inclus dans la semence, réduite alors à une coque presque vide. Ces cotylédons avaient été séchés vers 40°, puis broyés en présence de sable.

On a fait agir, pendant 7 jours, à 25-28°, une quantité de poudre correspondante à 0 gr., 50 de cotylédons secs, sur 100 gr. d'un empois d'albumen de Caroubier à 4 pour 100. L'expérience a été faite séparément en présence de chloroforme et en présence de fluorure de sodium. Dans les deux cas, on a obtenu la liquéfaction et la saccharification partielle de l'empois, l'action fermentaire s'était manifestée d'une façon plus active dans l'empois fluoré. L'analyse des mélanges a permis d'y révéler la présence du mannose.

On verra plus loin que certaines moisissures sont susceptibles de produire, comme les ferments extraits des graines, la liquéfaction de l'albumen de la graine de Caroubier ; si l'on s'en tient seulement aux semences, je citerai, en manière de résumé, les espèces suivantes pour lesquelles cette action a été expérimentalement démontrée *in vitro* :

Ceratonia Siliqua L.
Trigonella Fœnum-græcum L.
Medicago sativa L.
Sarothamnus scoparius Koch
Spartium junceum L.
Trifolium repens L.
Robinia Pseudacacia L.
Phœnix canariensis Hort.
Hordeum vulgare L. (2)

(1) Comme celles qui nous ont servi, à M. Bourquelot et à moi, dans un travail antérieurement cité, ces graines provenaient de la libérale obligeance de M. H. Dellor, d'Hyères, à qui j'adresse ici mes vifs remerciements.

(2) On reviendra plus loin sur cette action des ferments de l'Orge, quand il y aura lieu de la comparer avec celle des ferments des Légumineuses.

(A suivre).

450 — Lille, imp. Le Bigot frères. Le Gérant : Th. Clerquin.

Digitized by Google

RECHERCHES CHIMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES

SUR

LA DIGESTION DES MANNANES ET DES GALACTANES,

par la séminase,

CHEZ LES VÉGÉTAUX

par Henri HÉRISSEY *(Suite)*

---

2. — Action des ferments d'une même origine (ferments de la Luzerne) sur des mannanes et des galactanes variées.

Albumens de Légumineuses. — Pour les graines assez volumineuses, telles que celles du Févier d'Amérique et du Canéficier, le meilleur mode d'expérimentation est celui qui consiste, comme pour la graine de Caroubier, à faire tremper ces semences dans l'eau, et à en séparer à la main l'albumen, lorsque ce dernier, suffisamment gonflé, peut être facilement séparé de l'épisperme et de l'embryon. Avec les albumens ainsi séparés, séchés, et convenablement divisés, on prépare des empois sur lesquels on fait agir, dans des conditions analogues à celles des expériences précédemment décrites, soit des macérations de Luzerne germée, soit la poudre sèche de Luzerne germée elle-même. On obtient ainsi la liquéfaction et la saccharification partielle des hydrates de carbone des albumens mis en expérience.

A vrai dire, ce procédé n'est applicable que dans des cas tout à fait favorables. En effet, beaucoup de semences sont trop petites ou ont un albumen trop peu développé pour qu'il soit pratiquement possible d'en isoler ce dernier. La dissection, profitable pour l'étude morphologique, devient complètement inutilisable lorsqu'il s'agit d'opérer sur une assez forte proportion de matière première. C'est

Digitized by Google

donc un procédé auquel j'ai dû souvent renoncer, dès lors que je voulais, dans l'action des ferments, obtenir des produits de digestion en quantité suffisante pour pouvoir les caractériser chimiquement.

La difficulté peut être surmontée de deux façons très différentes: ou bien, on soumet la graine entière à la digestion ; ou bien on extrait les hydrates de carbone, en les faisant passer dans des dissolvants appropriés d'où on les précipite ensuite par addition d'alcool ; on opère sur le produit ainsi séparé. Je décrirai quelques types d'expériences se rapportant à ces divers modes d'opérer.

Digestion des hydrates de carbone des graines d'Ajonc d'Europe par les ferments de la Luzerne. — 400 gr. de semences d'Ajonc d'Europe, broyées au moulin, ont été délayés dans 1.500 cc. d'eau distillée et le mélange maintenu pendant 30 minutes dans un bain de vapeur d'eau à 100° (1). Après refroidissement, on a ajouté 40 gr. de poudre de Luzerne germée, 500 cc. d'eau et 20 cc. de toluène.

On a laissé pendant 7 jours à 33°, exprimé et filtré ; le liquide, fluide et très limpide donnait avec 3 volumes d'alcool à 95° un précipité très faible d'aspect pulvérulent. 1.400 cc. de liquide ont été évaporés au bain-marie jusqu'à un volume d'environ 100 cc. ; on a filtré et ajouté au filtrat obtenu 4 cc. de phénylhydrazine et 4 cc. d'acide acétique cristallisable. Après 20 heures, on a recueilli avec les précautions ordinaires le précipité cristallisé qui s'était formé ; il pesait 2 gr. et présentait tous les caractères de la mannosehydrazone ; traité par l'aldéhyde benzoïque il a fourni d'ailleurs du mannose cristallisé.

Un mélange témoin, analogue au précédent mais non additionné de poudre de Luzerne germée, conservé pendant le même temps à la même température, fournissait par filtration un liquide épais donnant avec l'alcool à 95° un précipité filamenteux assez abondant. La recherche du mannose effectuée dans ce liquide donnait des résultats négatifs.

Comme d'autre part, ainsi que des expériences directes l'ont montré, la poudre de Luzerne germée n'est pas susceptible de

(1) J'opérais dans un autoclave dont je laissais ouvert le robinet d'échappement de la vapeur.

Digitized by Google

fournir du mannose, il ressort nettement de l'expérience précédente que la formation de mannose observée doit être rapportée à la digestion des hydrates de carbone de la graine d'Ajonc d'Europe, sous l'influence de la Luzerne.

Le poids de la mannosehydrazone recueillie paraît évidemment très faible, relativement au poids de graines mis en œuvre ; il n'y a pas là matière à s'étonner, car il s'agit ici d'une graine dans laquelle l'albumen existe en proportion beaucoup moindre que dans celle de Caroubier ou de Févier d'Amérique. Nous verrons plus loin, — précisément à l'occasion de recherches sur cette dernière graine —, que la digestion de semences à albumen très développé permet l'isolement des produits de la digestion avec des rendements tout à fait avantageux et comparables à ceux qu'on obtient dans l'hydrolyse par les acides.

Dans certains cas, l'action directe des ferments de la graine de Luzerne sur les graines entières de Légumineuses donne des résultats tout à fait peu satisfaisants. Ce n'est pas que la digestion des hydrates de carbone de réserve ne s'effectue point réellement; cette digestion est seulement très difficile à démontrer par suite de la proportion relativement considérable des matières étrangères contenues dans les mélanges fermentaires, à côté des produits qui nous intéressent. Dans ces conditions, l'isolement du mannose, à l'état de mannosehydrazone, devient très pénible, pour ne pas dire impossible.

Cependant, en prenant certaines précautions, on peut, même dans ce cas, instituer des expériences décisives. Si l'on passe dans un moulin peu serré les graines de Légumineuses à albumen corné, on constate d'une façon générale que la graine se sépare en deux portions bien distinctes, d'une part l'embryon généralement très friable et qui se brise en morceaux assez petits, d'autre part l'albumen adhérent à l'épisperme et se présentant sous forme de fragments aplatis plus ou moins volumineux. Si l'on crible sur des tamis convenablement choisis, les graines ainsi moulues, on peut arriver à se débarrasser de la majeure partie des particules fines provenant de la mouture de l'embryon, tandis que les portions riches en albumen s'accumulent sur le tamis.

Ce procédé m'a permis en particulier de caractériser la présence

Digitized by Google

du mannose dans les digestions de graines de Fenugrec et de graines de Robinier Faux-Acacia par les ferments de la Luzerne.

L'opération était conduite comme pour les graines d'Ajonc d'Europe, avec cette différence qu'on n'opérait, comme nous venons de le voir, que sur des portions de graines plus riches en albumen que la totalité des graines initiales. 100 gr. de graines de Robinier Faux-Acacia ont fourni ainsi, dans une de mes expériences, 29 gr., 2 de produit sur lequel on a fait agir la graine de Luzerne. Le rendement final de l'opération en mannosehydrazone a été néanmoins extrêmement faible. Il a été meilleur avec la graine de Fenugrec (on a ainsi obtenu en mannosehydrazone, environ 3,15 pour 100 du produit mis à digérer).

Je ne rappellerai ici que pour les mentionner, les expériences de digestion effectuées sur des hydrates de carbone retirés préalablement des albumens. Ces expériences peuvent se faire aisément sur les mannogalactanes extraites par des procédés dont j'ai précédemment rappelé l'indication. Réalisées d'abord avec les mannogalactanes de Luzerne et de Fenugrec, en commun avec M. Bourquelot, elles ont été répétées ensuite avec les mannogalactanes de *Trifolium repens*. Plus tard, Goret a étendu les résultats de ces recherches en soumettant à la digestion, par les ferments de la graine de Luzerne germée, les mannogalactanes de Minette, de Mélilot et de Lotier. Il résulte de toutes ces expériences que les hydrates de carbone examinés sont tous hydrolysés par les ferments de la graine de Luzerne, qui les transforment, comme le fait l'acide sulfurique, en mannose et en galactose.

Action des ferments de la Luzerne sur les hydrates de carbone des tubercules d'Orchidées.

On a vu précédemment que les tubercules de beaucoup d'Orchidées contiennent un mucilage spécial, susceptible de fournir du mannose, lorsqu'on l'hydrolyse par les acides minéraux étendus et bouillants. Les mannanes des tubercules d'Orchidées, assez facilement hydrolysables, paraissant peu condensées, au moins partiellement solubles dans l'eau, se rapprochent beaucoup des mannanes des Légumineuses ; il était dès lors intéressant, comparativement aux recherches sur les graines à mannanes, de chercher à approfon-

Digitized by Google

dir le mécanisme de la digestion des produits analogues à ces dernières, contenus dans les tubercules d'Orchidées.

Mes expériences ont porté, d'une part sur le salep commercial, et d'autre part sur plusieurs espèces d'Orchidées indigènes.

SALEP. —

Les expériences ont été faites dans des conditions assez variées :

Expérience I. — On a opéré sur de la poudre de salep provenant de la droguerie.

A		B	
Salep pulvérisé	4 gr.	Salep pulvérisé	4 gr.
Eau distillée	80 cc.	Eau distillée	80 cc.
Après 20 m. au bain-marie bouillant, et refroidissement, on ajoute :		Après 20 m. au bain-marie bouillant, on ajoute le mélange suivant, préalablement bouilli :	
Eau distillée	20 cc.	Eau distillée.	20 cc.
Luzerne germée pulvérisée. .	1 gr.	Luzerne germée pulvérisée. .	1 gr.
Fluorure de sodium	1 gr.	Fluorure de sodium	1 gr.

On a abandonné les mélanges A et B pendant 5 jours à 30°-35°, puis pendant 2 jours à 15°-17°.

Le mélange A filtrait facilement ; le liquide, traité par 2 volumes d'alcool à 95°, a donné un faible précipité. Ce dernier, lavé à l'alcool et séché, avait un poids de 0 gr., 25, rapporté à 100 cc. de liquide initial. Les liqueurs alcooliques ont été évaporées à un volume convenable ; le résidu a été repris par l'eau et traité par l'acide acétique et la phénylhydrazine. On a obtenu un précipité de mannosehydrazone du poids de 0 gr., 112, rapporté à 100 cc. de liquide initial.

Le mélange B filtrait difficilement. Traité par l'alcool dans les mêmes conditions que A, il a fourni un précipité du poids de 2 gr., 46. La recherche du mannose dans le résidu d'évaporation des liqueurs alcooliques a donné des résultats complètement négatifs.

On voit nettement dans cette expérience que l'action des ferments de la Luzerne a eu pour résultat de saccharifier, au moins partiellement, les hydrates de carbone du salep, et en particulier, de donner du mannose, aux dépens des mannanes. Les expériences qui vont être décrites conduisent à des résultats encore plus décisifs.

Expérience II. — Du salep acheté entier a été pulvérisé au moulin et la poudre a été passée à travers un tamis de laiton ayant sensiblement 15 mailles par centimètre de longueur. La poudre

Digitized by Google

obtenue a été traitée à l'ébullition, pendant environ 30 m., par 3 fois son poids d'alcool à 95°. Après refroidissement, on a essoré le produit obtenu, on l'a lavé avec de l'alcool à 95°, et finalement on l'a fait dessécher vers 40°-45°. Dans cette opération, le salep avait perdu environ un dixième de son poids initial. C'est la poudre de salep ainsi traitée par l'alcool qui a été utilisée dans l'expérience ci-dessous.

On a disposé les mélanges suivants :

A		B	
Salep pulvérisé.	50 gr.	Salep pulvérisé.	50 gr.
Eau distillée.	400 cc.	Le mélange suivant n'a été ajouté qu'après ébullition préalable et refroidissement :	
Luzerne germée pulvérisée .	10 gr.	Eau distillée.	400 cc.
Fluorure de sodium . . .	6 gr.	Luzerne germée pulvérisée .	10 gr.
		Fluorure de sodium . . .	6 gr.

Les mélanges ont été abandonnés pendant 5 jours à la température de 33°-34°.

Le mélange A, devenu complètement fluide dès les premières 24 heures, filtrait rapidement ; 200 cc. (= 25 gr. de salep) ont été additionnés de 12 cc. d'acide acétique et de 12 cc. de phénylhydrazine. Il s'est formé un précipité de mannosehydrazone qui, recueilli, lavé et séché, pesait 3 gr., 50, ce qui correspond sensiblement à 14 gr. pour 100 gr. de salep pulvérisé, mis à digérer. Sans vouloir établir une comparaison qui ne serait justifiée que par l'identité absolue du produit mis en œuvre, je rappellerai toutefois que Fischer et Hirschberger avaient obtenu, par l'action des acides, seulement 5 à 6 gr. de mannosehydrazone pour 100 gr. de salep.

La preuve surabondante de la formation du mannose, dans la digestion des hydrates de carbone par les ferments de la Luzerne, est fournie par ce fait que j'ai régénéré le mannose, en traitant la mannosehydrazone recueillie par l'aldéhyde benzoïque, et que j'ai déterminé les constantes du produit cristallisé ainsi obtenu. On a trouvé un pouvoir rotatoire $\alpha_D = +14°,7$ ($v = 15$ cc., $l = 2$, $p = 0$ gr., 51, $\alpha = +1°$), avec rotation originelle vers la gauche ; le point de fusion était de 133-134°. Ces propriétés sont caractéristiques du mannose.

Le mélange témoin B n'avait subi à l'étuve aucune liquéfaction :

Digitized by Google

il formait une masse compacte ne se détachant du flacon que sous l'influence des chocs imprimés à la paroi de ce dernier.

On a fait avec le salep et la Luzerne plusieurs autres expériences, en particulier en remplaçant comme antiseptique le fluorure de sodium par le toluène. Dans tous les cas, on a pu isoler, des mélanges fermentaires, du mannose en quantité notable.

Loroglossum hircinum Rich (1). — Un certain nombre de pieds de *Loroglossum hircinum* ont été récoltés dans la première quinzaine de février ; on en a séparé les gros tubercules, formés durant l'année précédente. Ces tubercules étaient en pleine végétation, car ils commençaient déjà à se rider, indice manifeste de la mise en œuvre de leurs réserves nutritives. 100 gr. de tubercules frais ont été pilés avec du sable, puis maintenus pendant 20 minutes au bain-marie bouillant, en présence de 200 cc. d'eau distillée. Après refroidissement, on a ajouté 3 gr. de fluorure de sodium (mélange A). Un deuxième mélange, chauffé comme le précédent au bain-marie, a été additionné, après refroidissement, de 3 gr. de fluorure de sodium et de 3 gr. de poudre de Luzerne germée (mélange B). Les mélanges ont été abandonnés à eux-mêmes 4 jours à 30-35°, puis 15 jours à 15-17°.

Au bout de ce temps, le mélange B filtrait beaucoup plus facilement que A qui était resté très visqueux. Les liquides A et B contenaient respectivement, pour un volume de 100 cc., 0 gr., 609 et 2 gr., 155 de sucre réducteur exprimé en dextrose. La quantité de sucre apportée par la Luzerne dans le mélange B était de 0 gr., 142 pour 100 cc., comme l'a montré une expérience témoin. Les liqueurs A et B ont été traitées par l'acétate de phénylhydrazine dans le but de rechercher le mannose. Le mélange B a fourni sensiblement 0 gr., 350 de mannosehydrazone pour 100 cc. ; le mélange B n'a donné, pour le même volume, qu'un très léger précipité de 0 gr.,014 ; ce dernier précipité n'était pas cristallisé, comme l'a prouvé l'examen microscopique ; il ne possédait aucun des caractères de la mannosehydrazone. La mannosehydrazone obtenue avec la

(1) Je dois remercier ici MM. Arnould (de Ham), Bourquelot, Dupin (de la Motbe Saint-Héray) et Marsault (de Blois) qui m'ont largement facilité mes recherches sur les Orchidées, en me procurant d'assez grandes quantités de tubercules d'espèces indigènes.

Digitized by Google

totalité du mélange B, traitée par l'aldéhyde benzoïque, a fourni du mannose cristallisé.

Il ressort nettement de cette expérience que les ferments de la Luzerne agissant sur les hydrates de carbone du tubercule de *Loroglossum hircinum* ont produit du mannose. La quantité de ce dernier paraît faible, mais je dois faire remarquer que les chiffres indiqués ci-dessus sont au-dessous de la vérité et ne sauraient être considérés comme étant l'expression d'un dosage même approché, à cause des difficultés inhérentes à la précipitation de la mannosehydrazone dans des liqueurs relativement impures.

J'ai fait d'autres expériences avec le *Loroglossum hircinum*, en opérant sur des tubercules frais qui avaient été préalablement épuisés par l'alcool bouillant, dans le but de recherches étrangères à celles poursuivies ici. J'ai obtenu, dans ces conditions, des mélanges fermentaires dans lesquels la précipitation de la mannosehydrazone s'opérait avec beaucoup plus de facilité que dans l'expérience précédente, en même temps qu'en quantité très notable, relativement au poids de matière sèche mise en œuvre.

Orchis militaris L. — 50 gr. de tubercules frais d'*Orchis militaris*, récoltés au commencement de juin, ont été pilés en présence de 100 cc. d'eau. Le mélange, maintenu au bain-marie bouillant pendant 15 minutes, a été additionné, après refroidissement, de 1 cc., 5 de toluène et maintenu pendant 14 jours à 33-34° (1). Le mélange était resté épais et compact. A ce moment, on l'a additionné de 3 gr. de poudre de Luzerne germée, qu'on a répartie dans la masse aussi également que possible, à l'aide d'une baguette de verre. Après 7 jours, à 33°, la masse, complètement liquéfiée, a été exprimée et filtrée. Le liquide, traité par l'acétate de phénylhydrazine (2), a fourni 1 gr., 31 de mannosehydrazone pour 100 cc.

(1) On opérait ainsi dans le but d'utiliser de tels mélanges comme témoins dans des expériences qui seront décrites dans une autre partie de ce travail (chapitre III). Les résultats des essais présentement exposés trouvent d'ailleurs un solide appui dans cette façon d'opérer.

(2) Lorsqu'on traite un mélange fermentaire dans le but d'y rechercher le mannose, il est bon d'ajouter séparément à ce mélange l'acide acétique et la phénylhydrazine. L'addition d'acide doit être faite la première, il peut arriver en effet qu'elle détermine des précipitations de substances plus ou moins analogues à la caséine végétale, substances dont le poids viendrait s'ajouter à celui de la mannosehydrazone formée consécutivement. On ajoute donc d'abord l'acide acétique, et, si ce dernier détermine une précipitation, on filtre avant l'addition de phénylhydrazine.

Digitized by Google

Orchis montana Schm. — Les tubercules de cette espèce ont été récoltés au commencement de juin. On a expérimenté séparément sur les tubercules anciens et sur les tubercules jeunes. La proportion relative, pour 100 gr. de tubercules totaux, était de 37 gr., 5 des premiers pour 62 gr., 5 des seconds.

Les tubercules pilés ont été délayés dans 2 fois leur poids d'eau distillée et le mélange maintenu au bain-marie bouillant pendant 15 minutes. Abandonnés pendant 7 jours à 33 34°, en présence d'une quantité de toluène suffisante pour maintenir le milieu aseptique, ils n'ont manifesté aucun changement au point de vue de leur consistance : le mélange préparé avec les tubercules anciens constituait une masse très visqueuse se détachant à peine du flacon qui la contenait, tandis que le mélange préparé avec les tubercules de l'année constituait une masse totalement solide. Les mélanges, additionnés de poudre de Luzerne germée dans la proportion de 2 gr. pour 100 gr. du mélange total, se sont rapidement liquéfiés. Après de nouveau 7 jours à 33-34°, on les a filtrés et essayés au point de vue de la présence du mannose. On a pu en isoler de la mannosehydrazone dans la proportion de 1 gr. pour 100 cc. de liquide provenant de l'expérience effectuée avec les tubercules anciens et de 1 gr., 74 pour 100 cc. de liquide provenant de la digestion des tubercules jeunes.

La comparaison des deux derniers résultats numériques obtenus nous permet de conclure qu'au moment où notre expérience a été réalisée, l'utilisation des mannanes avait dû commencer à s'effectuer déjà dans les tubercules anciens, se soldant par un affaiblissement sensible du rendement en mannose, dans la digestion réalisée expérimentalement par les ferments de la Luzerne.

Orchis bifolia L. — Cette espèce a été récoltée dans la deuxième quinzaine de juin. On a opéré sur le mélange de tubercules anciens (26,66 pour 100) et de tubercules nouveaux (73,33 pour 100). — 19 gr. de tubercules frais ont été pilés, et maintenus au bain-marie bouillant pendant 15 minutes, en présence de 38 gr. d'eau. Après refroidissement, on a ajouté 0 cc., 6 de toluène et abandonné à 33°-34° pendant 7 jours. La masse était restée solide. On y a ajouté 1 gr., 14 de poudre de Luzerne germée et remis à l'étuve pendant 7 jours. A ce moment, le mélange était complètement liquéfié ; exprimé, filtré

Digitized by Google

et traité par l'acétate de phénylhydrazine, il a fourni un précipité de mannosehydrazone dont le poids supposé rapporté à 100 cc. de liquide était de 1 gr., 189.

Orchis purpurea Huds. — Cette espèce a été récoltée dans la dernière quinzaine de juin. A ce moment les tubercules anciens étaient tout à fait aplatis et sur le point de disparaître à peu près complètement. Ils n'ont donc pas été utilisés. Les tubercules jeunes étaient volumineux et turgescents. 100 gr. de tubercules frais coupés en tranches minces et séchés à 114°, laissaient un résidu du poids de 20 gr., 90 pour 100 grammes.

150 gr. de tubercules frais, pilés avec 300 gr. d'eau distillée ont été maintenus au bain-marie bouillant pendant 15 minutes. Après refroidissement et addition de 4 cc., 5 de toluène, on a abandonné à 33°-34° pendant 4 semaines. La masse est restée complètement solide, sans aucune modification. Additionnée de 9 gr. de poudre de Luzerne germée et maintenue de nouveau 7 jours à 33°-34°, elle s'est fluidifiée en totalité. Le liquide traité par l'acétate de phénylhydrazine a fourni 1 gr., 82 de mannosehydrazone pour 100 cc.

J'ai voulu comparer le rendement en mannosehydrazone de la digestion des tubercules d'*Orchis purpurea* par la Luzerne, à celui que pouvait fournir l'hydrolyse des mêmes tubercules effectuée par un acide minéral étendu et bouillant.

100 gr. de tubercules frais coupés en tranches minces ont été traités à l'autoclave par 200 cc. d'acide contenant 3 gr. d'acide sulfurique pour 100 cc. On a chauffé vers 110° pendant 45 minutes. On a laissé refroidir à 100°, agité le mélange, remis le couvercle de l'autoclave en place et chauffé encore pendant 45 minutes. Après refroidissement, on a rétabli avec de l'eau distillée le poids primitif du mélange, et filtré à la trompe. Le liquide, neutralisé par le carbonate de chaux a été bouilli et filtré de nouveau après refroidissement. Le résidu résultant de l'hydrolyse des tubercules, lavé à l'eau et à l'alcool, puis séché à 110°, pesait seulement 0 gr., 83. Quant au liquide neutralisé, il a été additionné d'acétate de phénylhydrazine en quantité convenable. Dans ces conditions, il s'est formé un précipité de mannosehydrazone du poids de 4 gr., 05 pour 100 cc. de liquide.

Si l'on veut bien se reporter à l'expérience de digestion opérée

Digitized by Google

par les ferments de la Luzerne, on verra que les essais ont été conduits de telle sorte que le rapport de la substance hydrolysée au poids total du mélange fermentaire doit être considéré comme sensiblement le même que dans l'expérience d'hydrolyse avec l'acide sulfurique dilué. Il s'ensuit que les résultats numériques des deux expériences peuvent être logiquement mis en comparaison : l'hydrolyse diastasique a permis d'obtenir 1 gr., 82 de mannosehydrazone, quand l'hydrolyse sulfurique permettait d'en obtenir 4 gr., 05.

Orchis latifolia L. — Les tubercules de cette espèce ont été récoltés dans les derniers jours de juin. On a utilisé séparément les tubercules anciens et les tubercules jeunes. Le rapport du poids des premiers à celui des seconds était de 39,65 à 60,35 pour 100 du mélange total. Dans les mêmes conditions expérimentales que pour les expériences précédentes, on a pu obtenir 0 gr., 44 de mannosehydrazone pour 100 cc. du mélange provenant de tubercules anciens. La mannosehydrazone provenant des tubercules jeunes était en plus grande quantité, mais elle n'a pu être exactement dosée par suite d'un accident.

3. — Digestion des mannanes et des galactanes par les moisissures.

Si l'on abandonne à l'air un empois solide préparé avec un albumen corné de Légumineuse, tel que ceux de Caroubier, de Févier ou de Canéficier, on constate, au bout de très peu de temps, surtout si la température ambiante est assez élevée, que cet empois est le siège d'un développement rapide d'organismes très variés. Si l'on veut bien se rappeler que les albumens ne sont pas composés en totalité d'hydrates de carbone, mais contiennent, en outre, des matériaux azotés et des matières minérales, on conçoit facilement qu'ils doivent constituer en présence de l'eau, un milieu extrêmement favorable à la culture des micro-organismes. Les expériences de digestion de ces albumens, par les ferments solubles, doivent par suite être conduites en milieu constamment antiseptique, si l'on veut considérer comme définitifs les résultats acquis par l'expérimentation ; en outre, il est bon de multiplier les expériences comparatives, avec des mélanges témoins, dont la stabilité, au début et à la fin de l'expérience, est un sûr garant de la sécurité de la méthode

Digitized by Google

employée. Ce sont là des considérations dont l'importance n'échappe à personne et que je n'ai pas perdues de vue un seul instant au cours de ces recherches.

Lorsque les microorganismes s'attaquent à une substance alimentaire quelconque, hydrate de carbone, matière albuminoïde ou matière grasse, il semble bien que la digestion de ces diverses catégories d'aliments se fasse, comme chez les êtres supérieurs, par suite de la sécrétion de diastases appropriées. L'utilisation physiologique de l'amidon, par exemple, ne semble pas différer essentiellement, qu'elle soit réalisée par une Mucédinée ou qu'elle s'effectue dans l'organisme des Mammifères; dans les deux cas, des diastases analogues déterminent d'abord la liquéfaction du grain d'amidon, puis sa dégradation moléculaire successive aboutissant finalement au maltose, et même à un sucre plus simple, le glucose. En fait, toutes les expériences effectuées dans cet ordre d'idées nous révèlent les microorganismes comme des producteurs des ferments les plus variés, à telle enseigne qu'ils constituent fréquemment une source de diastases du plus grand profit pour l'expérimentateur. Pour m'en tenir seulement aux Mucédinées, je rappellerai que l'*Aspergillus niger* V. Tgh. et le *Penicillium glaucum* Link ont servi ainsi à un nombre considérable d'expériences rendues possibles par l'obtention facile de ces moisissures, à la suite du mémorable travail de Raulin.

La multiplicité des diastases que peut produire une même moisissure, surtout quand on fait varier les conditions de végétation de cette dernière, est véritablement surprenante ; elle explique du reste l'accommodation des Mucédinées aux milieux les plus divers. Il y avait tout lieu de penser que les hydrates de carbone, mannanes et galactanes, qui nous occupent ici, devaient éprouver, sous l'action des ferments sécrétés par les Mucédinées, des transformations correspondantes à celles que j'ai précédemment signalées sous l'action des ferments provenant des végétaux supérieurs. Les expériences que j'ai faites pour vérifier cette conception ont été conduites avec deux moisissures, l'*Aspergillus niger* V. Tgh. et l'*Aspergillus fuscus* Bon (1) ; je décrirai surtout avec quelques détails les recherches effectuées avec l'*Aspergillus niger*.

(1) J'avais déjà précédemment utilisé cette espèce dans mes « Recherches sur l'émulsine » (*Thèse pour l'obtention du diplôme de docteur de l'Université de Paris* (*Pharmacie*), p. 13, 1899.

Digitized by Google

Lorsqu'on cultive l'*Aspergillus niger* sur du liquide de Raulin, à une température de 33-34°, la végétation s'effectue rapidement d'une façon très régulière ; le 3e jour, la moisissure prend, sur toute sa surface, une teinte noire plus ou moins intense, due à la formation des conidies : on peut alors retirer de l'étuve la culture ainsi arrivée à maturité et s'en servir de diverses façons comme source de ferments.

On obtient une solution très pure de ces derniers en suivant la méthode suivante employée déjà par maints expérimentateurs. On rejette le liquide nutritif sur lequel s'est développée la culture et on le remplace à deux ou trois reprises par de l'eau distillée, en ayant soin de laisser séjourner sous la culture, pendant quelques heures, celle introduite en dernier lieu ; en opérant ainsi on est certain d'entraîner en solution les dernières traces de liquide de culture. On rejette encore cette eau et on la remplace par d'autre eau distillée, en quantité telle qu'elle forme sous la culture une couche d'environ deux centimètres de hauteur. L'eau ajoutée en dernier lieu se charge peu à peu des ferments sécrétés par la moisissure ; au bout de 2 à 3 jours, à la température ordinaire, elle constitue une solution possédant des propriétés hydrolysantes très actives, susceptibles d'agir sur un grand nombre de composés (1). C'est ainsi qu'elle peut dédoubler le saccharose, le maltose, le tréhalose, le raffinose, le gentianose, le mélézitose, hydrolyser beaucoup de glucosides, saccharifier l'inuline et l'amidon, et même attaquer les matières albuminoïdes. Cette solution fermentaire est cependant très peu riche en matières extractives, car elle laisse à l'évaporation moins de 0 gr., 20 de résidu fixe par litre ; elle est d'une limpidité parfaite après filtration au papier; elle ne réduit pas la liqueur cupro-potassique et n'agit pas sur la lumière polarisée.

C'est avec une telle solution qu'ont été faites mes premières

(1) Em. Bourquelot : Les ferments solubles de l'*Aspergillus niger*; *Bull. Soc. mycol. de France*, IX, p. 189, 1893.

Em. Bourquelot : Sur l'hydrolyse du raffinose par les ferments solubles; *Journ. Pharm et Chim.*, [6], III, p. 330, 1896.

Em. Bourquelot et H. Hérissey : Sur l'hydrolyse du mélézitose par les ferments solubles; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6]. IV, p. 385, 1896.

Em. Bourquelot et H. Hérissey : Sur la constitution du gentianose; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXXII, p. 571, 1901; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], XIII, p. 305, 1901.

Digitized by Google

recherches touchant l'action des moisissures sur les hydrates de carbone des albumens cornés. 250 gr. de graines de Caroubier ayant donné 232 gr. d'albumen gonflé d'eau, correspondant sensiblement à 100 gr. d'albumen sec, cet albumen a été traité à quatre reprises à l'autoclave à 120-125°, pendant 10 à 15 minutes chaque fois en employant un litre d'eau à chaque reprise. Les liquides ont été réunis et passés à travers une gaze après refroidissement.

60 gr. du produit mucilagineux ainsi obtenu ont été additionnés de 20 cc. de liquide fermentaire d'*Aspergillus niger* préparé comme il a été dit plus haut, et d'un peu de thymol (mélange A). Le mélange A a été abandonné pendant dix heures à 45-50°, en présence d'un mélange témoin analogue (mélange B) dans lequel le liquide fermentaire ajouté avait été préalablement porté à l'ébullition dans le but d'anéantir toute activité diastasique. Le mélange A s'était graduellement liquéfié, mais ne renfermait encore que des traces à peine appréciables de sucre réducteur ; le mélange B avait gardé sa constance première.

L'expérience répétée dans des conditions plus favorables de durée, a conduit à des résultats plus nets. Néanmoins, la saccharification des hydrates de carbone était encore extrêmement faible. Je me suis alors résolu à chercher une méthode de recherches permettant de réaliser, à un degré plus avancé, la digestion des mannanes et des galactanes par les moisissures.

Dans une série de nouveaux essais, j'ai fait agir sur des empois d'albumen de Caroubier à 5 gr. pour 100 des cultures d'*Aspergillus niger* préalablement finement divisées. J'utilisais dans ce but des cultures âgées de deux jours, non encore fructifiées, et j'employais 10 gr. de culture fraîche essorée, pour 100 gr. d'empois. Les expériences ont été conduites vers 30-35°, en présence de divers antiseptiques, chloroforme, toluène, fluorure de sodium. On laissait l'action se poursuivre pendant sept jours.

Dans ces conditions, on a obtenu une saccharification assez avancée, on a pu déceler la présence du mannose dans les mélanges fermentaires.

J'ai pensé pouvoir obtenir des résultats encore plus décisifs en faisant végéter sur la matière à digérer elle-même la moisissure destinée à effectuer se digestion. La sécrétion des diastases est, en effet, étroitement liée aux conditions de nutrition des organismes

Digitized by Google

qui les produisent, de telle sorte qu'on est parfois, dans une certaine mesure, maître des conditions d'apparition de diastases déterminées. C'est ainsi que j'ai montré que l'émulsine n'apparaît pas dans l'*Aspergillus niger* cultivé sur un milieu riche en nitrate d'ammoniaque, tandis qu'il suffit simplement de remplacer le liquide de culture par de l'eau distillée pour déterminer chez la moisissure la sécrétion d'émulsine non antérieurement observée. En cultivant l'*Aspergillus niger* sur des milieux riches en mannanes et en galactanes, il y avait tout lieu de penser que la moisissure, sollicitée de se développer sur ces milieux nutritifs, sécréterait, d'une façon nécessaire et en abondance, les ferments nécessaires à leur digestion.

Les expériences ont porté sur les albumens de Caroubier et de Févier d'Amérique: elles ont été plusieurs fois répétées, dans des conditions analogues, de sorte qu'il suffira de décrire seulement une expérience type.

10 gr. d'albumen moulu de Caroubier ont été délayés dans 200 cc. d'eau distillée; le mélange, placé dans un matras de 500 cc. bouché d'un tampon de coton, a été maintenu au bain de vapeur à 100°, pendant 30 minutes. Après refroidissement, on a ensemencé aseptiquement le contenu du ballon avec quelques gouttes de liquide d'une culture pure d'*Aspergillus niger*. Ces cultures pures étaient préparées à l'avance, sur liquide de Raulin, dans de petites fioles de Bohême coniques; au moment de les utiliser, on agitait fortement le vase qui les contenait de façon à mettre les conidies en suspension dans la liqueur sous-jacente. Dans l'ensemencement de l'empois d'albumen, on a eu soin, en inclinant convenablement le ballon à plusieurs reprises, de répartir les conidies aussi uniformément que possible sur le milieu nutritif. Le matras étant placé à l'étuve à 33-34°, la germination des conidies s'est effectuée rapidement et, 3 jours après l'ensemencement, la culture bien développée était en pleine fructification. Elle formait un voile continu, mais incomparablement plus mince qu'une culture de même âge faite sur liquide de Raulin. Elle n'adhérait pas au milieu nutritif dont elle était déjà séparée par une mince zone de liquéfaction. A ce moment, on a ajouté au mélange 2 cc. de toluène, on a fermé le ballon avec un bouchon de liège, et on a agité vivement et fortement le ballon, de manière à déchirer la culture et à en répartir uniformément les débris dans la masse. On a abandonné de nouveau

Digitized by Google

à l'étuve à 33°-34° pendant 7 jours. Le mélange était devenu entièrement fluide; il donnait à la filtration un liquide à peine jaunâtre. Ce dernier, traité par l'acétate de phénylhydrazine, a fourni une mannosehydrazone très pure, entièrement comparable à celle qu'on peut obtenir en partant du mannose cristallisé. Additionné de 3 volumes d'alcool à 95° et filtré, il a donné à l'évaporation un résidu qui, traité par l'acide nitrique de densité 1,15, a fourni de l'acide mucique.

Dans une expérience ainsi conduite avec l'albumen de Caroubier, 100 cc. de liquide de digestion représentant sensiblement 5 gr. d'albumen initial ont fourni 1 gr., 12 de mannosehydrazone.

Dans les mêmes conditions, en opérant sur l'albumen de Févier d'Amérique, on a obtenu dans une expérience 2 gr., 10 de mannosehydrazone pour 100 cc. de liquide fermentaire. Dans une autre expérience, 100 cc. de liquide traités par l'alcool à 95°, filtrés et évaporés, ont fourni par un traitement convenable par l'acide nitrique à 1,15, 0 gr., 28 d'acide mucique correspondant à 0 gr., 37 de galactose.

Le salep, traité d'une façon analogue à celle indiquée pour les albumens de Caroubier et de Févier d'Amérique, a été digéré par l'*Aspergillus niger* avec formation abondante de mannose.

Les expériences faites avec l'*Aspergillus fuscus* ont porté sur les albumens de Caroubier et de Févier d'Amérique. Elles ont été conduites exactement comme celles réalisées avec l'*Aspergillus niger*. Une expérience de digestion de l'albumen de Caroubier a fourni 1 gr., 35 de mannosehydrazone pour 100 cc. de liquide fermentaire; une autre expérience avec l'albumen de Févier d'Amérique a donné 1 gr., 52 pour 100 cc.

La saccharification des albumens de Caroubier et de Févier d'Amérique, ainsi que celle des hydrates de carbone du salep, est bien due à l'action de diastases sécrétées par les moisissures mises en expérience; j'ai pris soin, en effet, de contrôler d'une façon indirecte les résultats positifs de mes recherches. Alors que la moisissure était arrivée au troisième jour de son développement, avant l'addition du toluène destiné à arrêter la vie de la Mucédinée et à agir en même temps comme antiseptique, je portais quelque temps un certain nombre de ballons de culture dans un bain de vapeur à 100°. En opérant ainsi, on arrête non seulement la vie de la moisis-

Digitized by Google

sure, mais on détruit en même temps tous les produits de nature diastasique sécrétés par cette dernière.

Dans ces conditions, si on ajoute du toluène après refroidissement, et si on abandonne les ballons à l'étuve, on n'observe aucune liquéfaction et par suite aucune saccharification du produit mis en expérience. Des mélanges témoins, conservés ainsi pendant plusieurs mois, d'abord à l'étuve, puis à la température ordinaire, ont gardé entièrement leur consistance primitive (1).

Chapitre III

OBSERVATIONS SUR LE MÉCANISME DE LA TRANSFORMATION DES MANNANES ET DES GALACTANES EN MANNOSE ET EN GALACTOSE, SOUS L'INFLUENCE DE LA SÉMINASE

Les diverses expériences rapportées au chapitre précédent démontrent qu'il est possible, sous l'influence de ferments solubles, de faire subir aux mannanes et aux galactanes étudiées des transformations aboutissant à des produits identiques à ceux fournis par l'action des acides étendus et bouillants sur les mêmes hydrates de carbone. C'est là le premier fait sur lequel je dois tout d'abord insister.

Pour ce qui touche les mannanes, on a vu que j'ai toujours pris soin de rechercher, par l'acétate de phénylhydrazine, le mannose qui devait en résulter comme produit ultime de leur digestion. Dans ces conditions, le mannose est précipité à l'état de mannosehydrazone. La mannosehydrazone peut être suffisamment caractérisée par les circonstances de sa formation, sa forme cristal-

(1) Comme il se produit, ainsi qu'on sait, une petite quantité d'acide oxalique dans les cultures d'*Aspergillus niger*, j'avais craint, au début de ces recherches, qu'il ne se produisit, en présence de ce dernier, du fait de porter à une température élevée les cultures sur albumen, la saccharification au moins partielle des hydrates de carbone envahis par la moisissure. Toute expérience du contrôle eût été rendue ainsi très difficile, sinon impossible; les résultats obtenus m'ont prouvé heureusement que mes craintes n'étaient pas justifiées.

Digitized by Google

lisée, son point de fusion (1). Néanmoins, j'ai tenu à m'assurer irréfutablement de son identité en en régénérant le mannose par l'aldéhyde benzoïque. Cette pratique n'a presque jamais été négligée, bien qu'elle ait conduit, comme on peut penser, à la nécessité d'effectuer un nombre considérable de manipulations. Dans tous les cas où j'ai ainsi opéré, j'ai pu obtenir le mannose à l'état cristallisé et fréquemment en quantité suffisante pour pouvoir le purifier et déterminer plusieurs de ses constantes physiques, telles que le point de fusion et le pouvoir rotatoire. Il suffit d'ailleurs d'une très petite quantité de mannosehydrazone pour pouvoir isoler le sucre et en faire sur lamelles des préparations qui, examinées à un faible grossissement, présentent les caractères cristallographiques les plus nets du mannose. L'opération peut réussir avec moins de 0 gr., 10 de mannosehydrazone.

Isolement du galactose. — Si l'isolement du mannose, dans les produits de digestion des albumens cornés, peut se faire avec une facilité relativement grande, il n'en va plus de même lorsqu'il s'agit du galactose formé dans les mêmes circonstances aux dépens des galactanes. Le galactose donne bien avec la phénylhydrazine une galactosehydrazone, mais cette dernière, à l'inverse de la mannosehydrazone, est relativement très soluble dans l'eau, comme c'est d'ailleurs le cas pour toutes les hydrazones des sucres actuellement connus, le mannose excepté; il en résulte que le galactose ne peut être directement isolé à l'état d'hydrazone. Si l'on chauffe avec de l'acétate de phénylhydrazine en excès une liqueur contenant du galactose, ce dernier donne naissance alors à une combinaison insoluble, la galactosazone, provenant de la mise en réaction d'une molécule de sucre et de deux molécules de phénylhydrazine.

La galactosazone peut être isolée et caractérisée, mais les circonstances de sa formation étant précisément les mêmes que celles

(1) Le point de fusion de la mannosehydrazone est assez délicat à déterminer, comme c'est le cas d'ailleurs pour la plupart des dérivés phénylhydraziniques des sucres. La détermination peut se faire soit au tube capillaire, soit au bloc de Maquenne. La valeur trouvée oscille aux environs de 190° (Fischer et Hirschberger ont d'abord donné 188°, puis plus tard 195 à 200°); elle peut varier suivant la durée de la chauffe; on évite toute incertitude à ce sujet en opérant à la fois sur le produit à essayer et sur une mannosehydrazone de provenance sûre; les deux produits doivent fondre simultanément.

Digitized by Google

de l'osazone du mannose (identique à celle du lévulose et du dextrose), il s'ensuit que ce procédé de recherche et de caractérisation du galactose ne peut être appliqué avec sécurité dans un mélange contenant, en même temps que ce dernier, un sucre susceptible de donner aussi avec la phénylhydrazine une osazone insoluble.

On a vu plus haut que le galactose résultant de la digestion des galactanes avait été fréquemment caractérisé par la formation d'acide mucique. Si on chauffe, en effet, dans des conditions déterminées, du galactose en présence d'acide nitrique de densité 1,15, il se précipite un produit blanc cristallisé, isomère de l'acide saccharique, mais extrêmement peu soluble dans l'eau froide, fondant en se décomposant vers 213°; ce produit n'est autre que l'acide mucique. La proportion d'acide mucique formée est proportionnelle de celle du galactose mis en expérience; en opérant dans les conditions exactement déterminées par Tollens, on obtient sensiblement 0 gr., 75 d'acide mucique pour 1 gr. de galactose.

La production d'acide ne réussit pas seulement avec le galactose, elle peut être réalisée avec tous les produits susceptibles de donner du galactose lorsqu'on les soumet à l'hydrolyse par les acides minéraux. Tels sont, par exemple, le raffinose, le lactose, le mannéotétrose, un grand nombre de gommes et de mucilages, les pectines, et précisément les galactanes même. Comme les galactanes, dont on a étudié la digestion de ce travail, sont précipitables par l'alcool, on a toujours eu soin d'utiliser cette propriété pour procéder à leur élimination préalable, avant toute recherche du galactose qui pouvait en provenir sous l'influence des ferments solubles.

Une objection qui d'ailleurs n'a pas été soulevée pouvait cependant être faite; c'est que l'acide mucique, résultant du traitement par l'acide nitrique, pouvait indiquer non pas la présence du galactose, mais seulement celle de galactanes non précipitables par l'alcool, moins condensées que celles mises en expérience.

Les conclusions des recherches précédemment exposées étant ainsi restreintes, ce dernier résultat indiquerait d'ailleurs une modification profonde du produit mis en œuvre, mais il ne saurait trancher la question de savoir si la digestion aboutit au galactose lui-même. Bien que je n'aie eu, pour ma part, aucun doute sur la légitimité des conclusions que M. Bourquelot et moi avions formu-

Digitized by Google

lées antérieurement, j'ai tenu néanmoins à lever toute incertitude à ce sujet, en isolant à l'état cristallisé le galactose formé *in vitro* dans la digestion des galactanes.

Cet isolément n'a pas été réalisé sans avoir été précédé de nombreux essais infructueux. Dans mes premières recherches, j'avais cru devoir trouver le plus de chances possible de réussite en opérant sur des mélanges contenant une notable proportion de matière sucrée, une centaine de grammes par exemple. Dans de telles conditions, comme je m'en étais convaincu dans des recherches antérieures, il est très facile d'obtenir du galactose cristallisé dans les hydrolyses d'albumen effectuées par les acides minéraux étendus et bouillants. Il n'en est malheureusement plus de même lorsqu'il s'agit d'hydrolyses réalisées par les ferments solubles; en effet, en dehors des impuretés qu'apporte nécessairement l'introduction du ferment dans les mélanges fermentaires, il faut tenir compte de ce fait capital qu'on n'arrive jamais, comme avec les acides, à une saccharification totale, ou au moins à peu près totale du produit mis en œuvre. La solution sucrée contient un mélange de principes immédiats assez variés, dont la présence peut rendre absolument vaine toute tentative de cristallisation effectuée sur les sucres contenus dans la liqueur.

On verra, dans le chapitre suivant, qu'il est relativement facile d'obtenir des mélanges fermentaires renfermant de fortes proportions de matières sucrées. Il suffit d'abandonner, par exemple, au sein d'un liquide antiseptique, dans des conditions sur lesquelles on insistera plus loin, des graines de Févier ou de Caroubier moulues, pour que la saccharification de l'albumen de ces graines s'effectue rapidement et à un degré très avancé. L'analyse des mélanges fermentaires y révèle la présence d'une grande quantité de sucre réducteur. Une partie de ce dernier, celle qui est représentée par la mannose, a toujours pu être facilement isolée. Quant au galactose, je n'ai pu parvenir, dans ces conditions, à l'obtenir à l'état cristallisé, malgré toute une série de purifications des liqueurs-mères par précipitations répétées au moyen de l'alcool.

Tanret (1) a montré récemment que les sucres réducteurs chauffés avec un excès même de phénylhydrazine ne donnent pas

(1) Sur l'extraction des sucres réducteurs (monoses); *Bull. Soc. chim.*, [3], XXVII, p. 392, 1902.

Digitized by Google

les osazones correspondantes, mais bien les hydrazones, à condition toutefois que les sucres ne soient pas souillés de sels ; la réaction étant terminée, la phénylhydrazine en excès est enlevée au moyen de la benzine, et le résidu épuisé par l'éther acétique qui dissout l'hydrazone formée. Il suffit d'évaporer l'éther acétique pour obtenir cette dernière à l'état solide. Si on la dissout dans l'eau et si on traite la solution par l'aldéhyde benzoïque, on met en liberté le sucre initial qui peut être ensuite récupéré très facilement et obtenu à nouveau à l'état cristallisé.

Dans mes essais d'isolement de galactose, j'ai tenté de mettre en pratique la méthode imaginée par Tanret pour l'extraction des monoses ; dans le cas présent d'un mélange présumé de mannose et de galactose, il suffisait de préparer les hydrazones des sucres, d'enlever l'excès de phénylhydrazine par la benzine, et de traiter par l'eau froide les hydrazones formées. Seule la galactosehydrazone devait entrer en solution, le sucre devait pouvoir en être récupéré au moyen de l'aldéhyde benzoïque.

J'ai fait plusieurs essais préliminaires qui m'ont en effet démontré la possibilité de l'isolement du galactose par cette méthode : c'est ainsi, par exemple, qu'on a dissous dans 5 gr. d'eau un mélange de 2 gr., 50 de mannose et de 2 gr., 50 de galactose ; on a ajouté 5 cc. de phénylhydrazine et chauffé au bain-marie bouillant, pendant 15 minutes, dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux. L'excès de phénylhydrazine a été enlevé par la benzine ; on a essoré le résidu, on l'a agité avec de l'éther, essoré à nouveau et séché. Traité par l'eau, il s'est partiellement dissous. La solution aqueuse filtrée a été additionnée d'aldéhyde benzoïque et chauffée ; il s'est fait, surtout après refroidissement, un précipité floconneux constitué par l'hydrazone de l'aldéhyde benzoïque ; la liqueur débarrassée de ce précipité par filtration et concentrée d'une façon convenable a fourni du galactose tout à fait pur.

Ce procédé, qui réussit ainsi très bien pour isoler le galactose d'un mélange de sucres purs, s'est trouvé complètement en défaut lorsque j'ai voulu l'appliquer aux extraits sucrés provenant de l'hydrolyse fermentaire des albumens cornés des Légumineuses, réalisée par autodigestion de la graine elle-même; j'ai bien obtenu des composés phénylhydraziniques, mais ces derniers étaient

Digitized by Google

surtout constitués par des osazones et souillés en outre d'impuretés de diverse nature.

J'ai pensé qu'il était préférable d'en revenir aux essais d'isolement du galactose par simple cristallisation, sans vouloir engager le sucre dans une combinaison chimique d'où il fallait ensuite l'extraire. Pour atteindre le but cherché, il y avait à tenir compte de certaines conditions avantageuses dont la réalisation devait être poursuivie dans la mesure du possible. En premier lieu, les produits sur lesquels on opérait devaient représenter des principes immédiats non souillés par des impuretés susceptibles de troubler l'expérimentation; en second lieu, il y avait tout intérêt à soumettre à la digestion des hydrates du carbone riches en galactanes, la proportion relative de mannose formée au cours de l'expérience étant diminuée d'autant.

J'ai pensé devoir réaliser les conditions les plus favorables à l'expérience en employant comme substance à digérer une mannogalactane très pure, extraite des semences de *Melilotus leucantha* Koch. Cette mannogalactane avait été préparée antérieurement en suivant un procédé semblable à celui qui a été précédemment décrit dans les recherches faites avec M. Bourquelot, sur les hydrates de carbone de réserve des graines de Luzerne et de Fenugrec : la graine moulue est mise à macérer pendant 2 jours dans 10 fois son poids d'une solution d'acétate neutre de plomb à 1 pour 100, en ayant soin d'agiter de temps en temps. Les liqueurs filtrées après expression sont additionnées d'acide oxalique en quantité suffisante pour précipiter le plomb en excès; on filtre à nouveau, et, au liquide filtré, on ajoute un volume et demi d'alcool à 90°-92°. Dans ces conditions, l'hydrate de carbone préalablement entré en dissolution se précipite en flocons blancs plus ou moins filamenteux qui se rassemblent lentement au fond du vase. Le précipité recueilli sur un filtre est délayé à plusieurs reprises dans de l'alcool à 90°, égoutté chaque fois, puis finalement bouilli dans de l'alcool à 95°. Après séparation de l'alcool, on l'exprime dans du papier à filtrer et on le fait sécher dans le vide sulfurique.

Goret, en opérant dans des conditions analogues, a obtenu, pour 100 gr. de graines, sensiblement 7 gr., 50 de produit perdant 6 pour 100 d'eau à la température de 100°. Dans les analyses les plus favorables, 100 parties de produit complètement sec lui ont fourni

Digitized by Google

97,09 de sucres réducteurs totaux, dans lesquels il a pu retrouver 51,62 de mannose et 44,24 de galactose.

La digestion de la mannogalactane de *Melilotus leucantha* a été opérée de la façon suivante :

Mannogalactane de *Melilotus leucantha* (séchée dans le vide)	20 gr.
Eau distillée	200 cc.
Poudre sèche de Luzerne germée	5 gr.
Toluène	3 gr.

On a abandonné le mélange à l'étuve à 33° pendant quatorze jours, en agitant deux fois chaque jour. La masse, à l'origine épaisse et visqueuse, était alors devenue complètement fluide. On a filtré ; le filtrat recueilli a été additionné de 3 volumes d'alcool à 95°. Après une nouvelle filtration, le liquide obtenu, presque incolore, a été distillé dans le vide jusqu'à un volume d'environ 30 centimètres cubes, puis traité quelque temps au bain-marie bouillant par 200 cc. d'alcool à 95°, dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux.

La liqueur alcoolique refroidie et reposée jusqu'à limpidité parfaite a été complètement évaporée dans le vide. Le résidu a été repris par l'alcool à 95° bouillant, à plusieurs reprises, en employant chaque fois 30 centimètres cubes d'alcool, en laissant refroidir et reposer les liqueurs après chaque épuisement.

La première et la deuxième reprises amorcées avec une trace de galactose ont fourni rapidement, en quelques jours, des cristaux très blancs qui ont été lavés à l'alcool, à l'éther, et séchés dans le vide. La cristallisation s'est du reste prolongée ensuite pendant plusieurs semaines.

Les cristaux recueillis présentaient tous les caractères du galactose.

Ils fondaient à 166°.

Leur pouvoir rotatoire, à la température de 20-21° a été trouvé égal à + 80°,39.

$$(\alpha = + 3°20' = + 3°,333,\ v = 100,\ p = 2,073,\ l = 2)$$

Or, si l'on calcule le pouvoir rotatoire du galactose, dans les conditions de l'expérience, à l'aide de la formule de Meissl (1) :

$$\alpha_D = + 83,883 + 0,0785\ p - 0,209\ t.$$

(1) Das specifische Drehungsvermögen der Lactose; *Journ. f. prakt. Chem.*, XXII, p. 97, 1880.

Digitized by Google

on trouve + 79°,76. La concordance est donc très bonne. On a observé en outre le phénomène de la birotation.

Traité par l'acide nitrique (d = 1,15), le produit a fourni de l'acide mucique en cristaux tout à fait blancs. Bien que la réaction n'ait porté que sur un poids très faible de cristaux (0 gr., 269), on a obtenu néanmoins un rendement en acide mucique de 0 gr., 179, soit de 66,5 pour 100 de galactose.

La production diastasique du galactose dans la digestion des galactanes des albumens cornés des Légumineuses se trouve donc ainsi démontré d'une façon irréfutable. L'expérience qui vient d'être décrite, quoique longue et assez pénible, surtout à cause de la préparation de la matière première nécessaire, peut néanmoins être répétée avec la plus grande facilité. Elle lève toute objection relative à la conclusion qui avait été précédemment formulée, en s'appuyant seulement sur la production d'acide mucique, dans les liqueurs de digestion débarrassées des produits précipitables par l'alcool fort.

Bien que je n'aie pas fait de recherches spéciales dans cette direction, je pense néanmoins qu'il serait peut-être possible d'isoler assez facilement le galactose cristallisé dans les produits de saccharification des albumens cornés par les ferments des moisissures.

Comme on l'a vu au chapitre précédent, les liqueurs de digestion qu'on obtient dans ces conditions sont en effet presque incolores, et il est à présumer que la cristallisation des sucres pourrait y être menée à bonne fin. Je n'ai pas cru nécessaire de chercher dans cette voie une démonstration qui n'aurait rien ajouté à celle qui vient d'être fournie.

(A suivre).

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX

DE

PALÉONTOLOGIE VÉGÉTALE

PUBLIÉS DANS LE COURS DES ANNÉES 1897-1900

par M. R. ZEILLER (Suite).

B. — *Période Tertiaire.*

Les nombreux travaux auxquels a donné lieu dans ces dernières année la flore de la période tertiaire offrant pour la plupart un intérêt plutôt local que général, l'ordre le plus naturel à suivre pour en rendre compte consiste à les classer par régions, en commençant par le bassin anglo-parisien, qui renferme des dépôts à plantes du début même du Tertiaire, pour passer de là à la France centrale et méridionale, puis aux pays limitrophes et aux autres parties de l'Europe, et finir par l'Amérique et par la région indo-australienne.

M. Langeron a entrepris (1) l'étude des types encore inédits de la flore paléocène de Sézanne compris dans les collections du Muséum d'histoire naturelle de Paris; il en a fait connaître 38 espèces nouvelles, dont les unes appartiennent à des genres déjà observés à Sézanne, tandis que les autres ont donné lieu, pour la plupart, à l'établissement de noms génériques nouveaux, tirés de ceux des genres vivants avec lesquels les affinités semblent les plus étroites. Ce sont, pour les Fougères, *Adiantophyllum* pour de grandes pinnules cunéiformes, à nervation réticulée; parmi les Monocotylédones, *Prototamus* pour une feuille rappelant beaucoup notre *Tamus communis;* parmi les Dicotylédones, une Lauracée désignée comme *Tetrantheroidea;* des Malvoïdées classées comme *Luheopsis*, *Echinocarpeopsis*, *Elæocarpeopsis* et *Astrapœites;* une feuille classée comme *Scolopioidea*, parmi les Bixacées; des fruits très analogues à ceux des *Spondias*, de la famille des Anacardiacées, désignés sous le nom de *Spondiocarpon*; un fragment de tige offrant l'apparence d'une Euphorbe charnue, classé comme *Euphorbiophloios* et une feuille, *Alchorneites mallotoides*, qui rappelle à la fois certains *Alchornea* et certains *Mallotus*; une autre feuille est

(1) M. Langeron : Contributions à l'étude de la flore fossile de Sézanne (*Bull. Soc. hist. nat. Autun*, XII, 1re part., p. 431-455, 5 fig., pl. II-IV; 1899; XIII, p. 333-370, pl. I-V; 1900).

Digitized by Google

rapportée formellement au genre *Marlea*, de la famille des Cornées, qui n'avait pas encore été observé à l'état fossile.

L'ensemble accuse, ainsi que l'avait déjà constaté Saporta, un mélange de formes tropicales ou subtropicales, et de formes tempérées dont plusieurs appartiennent à des genres actuellement indigènes et dont quelques-unes même se rapprochent d'espèces européennes : c'est ce qui a lieu notamment pour les *Acer*, parmi lesquels M. Langeron a observé des feuilles qui ne diffèrent en rien des *Acer pseudoplatanus* et *Ac. lætum*.

M. Fritel a signalé (1) dans l'argile plastique sparnacienne de Silly-la-Poterie, près de Villers-Cotterets, un riche gisement de plantes fossiles, renfermant une flore très voisine de celle des grès de Belleu.

Sur le même horizon, les grès landéniens de Beuvry, dans le Pas-de-Calais, ont fourni à M. St. Meunier (2) une inflorescence spiciforme portant des fruits sessiles, globuleux, d'apparence analogue à ceux des *Grewia*; l'auteur a donné à ce type, d'affinités problématiques, le nom de *Stachycarpus eocenica*.

MM. Raeymaekers (3) et F. Meunier (4) ont observé sur le même niveau, à Léau, dans le Brabant, des feuilles de *Laurus* et des fragments d'une résine fossile analogue au copal.

M. Cl. Reid a étudié (5) les fruits de l'Eocène supérieur de Headon dans le Hampshire, décrits par M. Gardner comme *Carpolithes headonensis;* il les rapproche de ceux des *Potamogeton*, dont ils ne diffèrent guère que parce qu'ils n'ont que deux carpelles au lieu de quatre ; il établit pour eux le nom générique de *Limnocarpus* et signale la présence, dans les mêmes couches, de feuilles linéaires, semblables à celles des *Ruppia* et de divers *Potamogeton*, qui semblent pouvoir leur correspondre.

M. Delheid a recueilli (6) dans le Rupélien de Belgique, c'est-à-dire dans l'Oligocène, des fruits d'attribution encore incertaine et des rhizômes qui rappellent le genre *Caulinites*. Je mentionnerai en passant, à propos de ce genre, les observations de M. Hollick (7), qui a appelé

(1) P.-H. Fritel : Sur un nouveau gisement de plantes fossiles de l'argile plastique aux environs de Paris (*Le Naturaliste*, 1900, p. 267-270, 15 fig.).

(2) St. Meunier : Nouvelle plante fossile éocène (*Le Naturaliste*, 1898, p. 17, 1 fig.).

(3) Raeymaekers : Note sur un gisement botanique d'âge landénien supérieur, à l'est de Tirlemont (*Ann. Soc. Géol. Belg.*, XXVI, *Bull.*, p. cxlix-clx ; 1899).

(4) F. Meunier : Le copal fossile du Landénien de Léau (Brabant) (*Ann. des Mines de Belgique*, V, p. 269-272 ; 1900).

(5) C. Reid : On *Limnocarpus*, a new genus of fossil plants from the Tertiary deposits of Hampshire (*Journ. Linn. Soc., Bot.*, XXXIII, p. 464-466 av. fig.; 1898).

(6) E. Delheid : Nouvelles additions à la flore et à la faune du Rupélien supérieur (*Ann. Soc. R. malacol. Belg.*, XXXI, *Bull.*, p. xx-xxiv av. fig.; 1899).

(7) A. Hollick : Affinities of *Caulinites* Ad. Brong. (*Bull. Torrey Bot. Club*, XXIV, p. 582-583, pl. 320 ; 1897).

Digitized by Google

l'attention sur les ressemblances de certains rhizômes de Graminées avec ces *Caulinites*, dont cependant l'attribution aux Naïadacées ne semble guère contestable, tout au moins en ce qui regarde les échantillons des couches marines du bassin parisien.

M. Fliche a étudié (1) quelques échantillons de fossiles végétaux trouvés dans l'Oligocène inférieur des Hautes-Alpes et qui comprennent, avec des Dicotylédones appartenant à des types connus, d'une part des Algues non douteuses à thalles linéaires bifurqués, que l'auteur désigne sous le nom générique de *Chondropsis*, d'autre part un remarquable cône d'Abiétinée, rappelant ceux des *Picea*, mais à écailles longuement frangées portant deux graines de dimensions relativement fortes ; M. Fliche crée pour ce type, qui rappelle aussi à certains égards les *Tsuga* et les *Abies*, un genre nouveau, sous le nom de *Crossotolepis*.

M. Guébhard a signalé (2) l'existence dans le Var, à la Roche-Esclapon, sur un niveau à peu près semblable à celui des Hautes-Alpes, assimilable au Sannoisien, d'une riche flore de Dicotylédones, dans laquelle M. Laurent a reconnu notamment un *Zanthoxylon* nouveau.

M. Laurent a consacré (3) à la riche flore tongrienne, probablement sannoisienne, des calcaires de Célas, dans le Gard, un très important travail, dans lequel il fait connaître un grand nombre de formes nouvelles, un *Chamærops*, un *Pandanus*, un *Vallisneria* représenté par des fleurs, et 30 Dicotylédones, parmi lesquelles je mentionnerai 9 *Ficus*, affines pour la plupart à des espèces actuelles de l'Inde ou de l'Himalaya, un *Artocarpus*, un *Banisteria* représenté à la fois par des feuilles et par des samares, et des gousses du genre *Parkinsonia* non encore rencontré à l'état fossile. Il convient de signaler le soin que l'auteur a eu, de donner, à l'appui de ses déterminations, des figures phototypiques des formes vivantes les plus analogues, de manière à permettre le contrôle immédiat des affinités qu'il invoque ; on ne peut que souhaiter de voir cet exemple fréquemment suivi.

M. l'Abbé Boulay a fait (4) une étude détaillée de la flore fossile de Gergovie, dans laquelle il a relevé un total de 63 espèces, dont six n'avaient pas encore été décrites, notamment une Myrsinée du genre *Mœsa* qui n'était pas connu jusqu'ici à l'état fossile. Envisagée dans son ensemble, la flore de Gergovie présente cette particularité, que, provenant de couches appartenant au Miocène inférieur, elle est surtout

(1) P. Fliche : Note sur quelques fossiles végétaux de l'Oligocène dans les Alpes françaises (*Bull. Soc. Géol. Fr.*, XXVII, p. 466-479, pl. XII; 1900).

(2) A. Guébhard : Quatre gisements nouveaux de plantes tertiaires en Provence (*C. R. somm. Soc. Géol. Fr.*, 1900, p. 146-147).

(3) L. Laurent : Flore des calcaires de Célas. Marseille. In-4°, 154 p., 1 tabl., 16 pl.; 1899.

(4) Boulay : Flore fossile de Gergovie (*Ann. Soc. scient. de Bruxelles*, XXIII, p. 55-132, 9 pl.; 1899).

Digitized by Google

composée d'espèces oligocènes, aquitaniennes pour la plupart, ou même en partie tongriennes, tandis que les espèces propres au Miocène n'y occupent qu'une moindre place, d'où il faut conclure que les conditions climatériques étaient restées alors en Auvergne les mêmes, à peu de chose près, que pendant la période oligocène.

Enfin, le dernier travail à citer, ayant trait à la flore tertiaire française, se rapporte à un fragment de bois carbonisé des cinérites pliocènes du Cantal, que M. Fliche a reconnu pour un bois de Vigne (1), et qu'il désigne sous le nom générique d'*Ampeloxylon*, détermination qui vient à l'appui de celle de Saporta, touchant la présence de feuilles de *Vitis* dans les cinérites.

M. Almera a fait connaître (2) la constitution de la flore du Pliocène moyen des environs de Barcelone, qui, avec quelques espèces actuelles, telles que *Populus tremula* et *Pop. alba*, *Fagus silvatica*, *Quercus ilex*, *Laurus nobilis*, *Nerium oleander*, se compose surtout de formes miocènes et affecte ainsi, comparativement à la flore pliocène de la vallée du Rhône, un caractère archaïque, attestant que la région nord-ouest de l'Espagne n'avait encore subi à ce moment, depuis l'époque miocène, que des modifications climatériques relativement peu importantes.

Parmi les très nombreux travaux auxquels a donné lieu la flore tertiaire italienne, je citerai d'abord ceux qui se rapportent à la Sardaigne, pour laquelle M. Engelhardt a donné (3) les listes des espèces reconnues par lui à différents niveaux, Éocène moyen, Oligocène et Helvétien, et d'où M. Sterzel (4) a fait connaître deux nouvelles espèces de *Palmoxylon*, provenant des grès et des tufs volcaniques de l'Oligocène.

Dans le Piémont, M. Peola (5) a étudié la flore des différents

(1) P. Fliche : Note sur un bois de vigne des cinérites du Cantal (*Bull. Soc. Géol. Fr.*, XXVII, p. 318-321 ; 1899).

(2) J. Almera : Catalogo de la flora pliocena de los arededores de Barcelona (*Bol. Com. d. Mapa geol. de España*, XXII, p. 145-171 ; 1897) ; Compte-rendu des excursions (*Bull. Soc. Géol. Fr.*, XXVI, p. 742-763 ; 1899).

(3) H. Engelhardt : Sardinische Tertiärpflanzen (*Abh. naturwiss. Ges. Isis in Dresden*, 1897, p. 56-60).

(4) J.-T. Sterzel : Ueber zwei neue *Palmoxylon*-Arten aus dem Oligocän der Insel Sardinien (XIV. *Ber. naturwiss. Ges. zu Chemnitz*, 13 p., 2 pl. ; 1900).

(5) P. Peola : Flora fossile dell'Astigiano (*Riv. Ital. di palæont.*, 1896, 20 p., 1 pl.); Florule pliocenìche del Piemonte (*ibid.*, 1896, 14 p.); Florula del Fossaniano di Sommariva-Perno (*ibid.*, IV, p. 122-125; 1899); Flora dell'Elveziano torinese (*ibid.*, V, p. 30-40 ; 1899); Flora del Langhiano torinese (*ibid.*, V, p. 95-108 ; 1899) ; Flora del Tongriano di Bagnasco (*ibid.*, VI, p. 79-88, 1 fig. ; 1900); Florula messiniana di Monte Castello d'Alessandria (*Bull. Soc. Geol. Ital.*, XVIII, p. 44-51 ; 1899); Flora messiniana di Guarene e dintorni (*ibid.*, XVIII, p. 225-255 ; 1899) ; Flora tongriana di Pavone d'Alessandria (*ibid.*, XIX, p. 36-62 ; 1900) ; Flora dell'Eocene Piemontese (*ibid.*, XIX, p. 535-548 ; 1900).

Digitized by Google

niveaux du Tertiaire, savoir : des couches à Fucoïdes de l'Eocène des environs d'Alexandrie, du Bartonien de Gassino, du Tongrien de la région d'Alexandrie ainsi que du bord sud du bassin piémontais ; du Langhien et de l'Helvétien de Turin ; du Messinien des environs d'Alexandrie et des environs de Guarene ; de l'Astien typique de la région d'Asti, de l'Astien supérieur ou Fossanien de Sommariva-Perno, ainsi que de divers autres gisements pliocènes allant jusqu'au Pliocène supérieur. Il a donné des listes détaillées des espèces observées, dont quelques-unes sont nouvelles, notamment dans le Tongrien un *Bambusa*, un *Weinmannia*, représenté par un calice, et un fruit d'*Apeibopsis* ; dans le Langhien un *Fagus* et un *Paliurus* ; dans l'Astien, un *Bambusa*, un *Fagus*, un *Juglans*, un *Alnus*, et un noyau de *Prunus*. La flore tongrienne, très riche, offre d'étroites affinités avec les flores contemporaines de Provence, de Suisse et d'Autriche ; la flore langhienne se fait remarquer par la forte proportion qu'elle renferme encore, d'espèces oligocènes, analogue en cela à la flore burdigalienne de Gergovie. Dans l'Helvétien et le Messinien, la végétation affecte un caractère plus franchement miocène, rappelant beaucoup celle d'Œningen, et dénotant un climat tempéré chaud ; des espèces indigènes actuelles, comme le *Fagus silvatica*, commencent déjà à s'y montrer. Dans le Pliocène, le climat devient de plus en plus tempéré, avec des différences appréciables d'un point à l'autre du Piémont, tout en restant sensiblement plus chaud qu'il ne l'est aujourd'hui.

M. Ristori (1) a fait connaître, pour la Toscane, la composition de la flore des lignites de la région du Monte Bamboli, qui, d'après les déterminations de M. Peruzzi, rappelle celle d'Œningen et peut être rapportée au Miocène moyen.

M. Peola a fait une revision de la flore des gypses d'Ancône (2), dans laquelle il a reconnu un total de 53 espèces, très analogues à celles de Senigaglia, et appartenant au Miocène tout à fait supérieur.

La flore de Teolo, dans la région des Monts Euganéens, appartenant à la base du Tongrien, a donné lieu à d'intéressantes observations de M. Squinabol (3), qui a rectifié quelques déterminations antérieures du Baron de Zigno.

Enfin, M. Longhi a signalé dans la molasse de la région de Bellune (4) une flore helvétienne très analogue à celle du Piémont.

En Suisse, M. Keller a poursuivi ses études sur la flore de la

(1) G. Ristori : Osservazioni sull'età e sulla genesi delle lignite del Massetano (*Atti soc. toscana d. sc. nat.. Mem.*, XV, p. 106-119 ; 1897).

(2) P. Peola : Aggiunte alla flora fossile dei gessi di Ancona (*Riv. Ital. di palæont.*, IV, p. 80-82 ; 1899.)

(3) S. Squinabol : Revisione della florula fossile di Teolo (*Atti Soc. veneto-trentina di sc. nat.*, IV, 12 p., 1 pl.; 1899.)

(4) P. Longhi : Della pietra da coti o dalla mola Bellunese e di alcuni suoi fossili (*Atti Soc. veneto-trent. di sc. nat.*, III, p. 41-87, 3 pl.; 1897).

Digitized by Google

molasse aquitanienne du canton de St-Gall (1), dans laquelle il a observé deux espèces nouvelles, un *Dodonæa* et un *Rhamnus*.

Aux environs de Francfort-sur-le-Mein, les dépôts pliocènes supérieurs de Nieder-Ursel et de la vallée du Mein ont fourni à M. Kinkelin (2) de nombreuses empreintes de Conifères et de Dicotylédones comprenant une proportion assez notable d'espèces actuelles, dont plusieurs, telles que *Pinus strobus*, *Æsculus hippocastanum*, *Juglans cinerea*, *Carya ovata*, n'existent plus dans la région ni même en Europe; l'auteur fait connaître en outre une nouvelle forme spécifique de fruit, du genre *Peucedanites*.

M. R. von Schlechtendal a étudié (3) quelques types de plantes fossiles du Tertiaire de la région de Halle-sur-Saale : il a reconnu qu'il fallait rapporter au genre *Phœnix*, comme feuilles incomplètement développées, les fragments de frondes de Palmier de l'Oligocène inférieur de Schkopau décrits par Heer comme *Amesoneuron* ; il a observé en outre, dans le Miocène inférieur de Bitterfeld, un *Pterocarya* nouveau, et il établit qu'il faut décidément rapporter au genre *Porana* les calices décrits par Gœppert sous le nom de *Getonia membranosa*.

M. Engelhardt a ajouté à ses précédents travaux sur la flore des couches à lignite du Nord de la Bohême une étude monographique détaillée de la flore des schistes de Berand (4), qu'il rapporte à l'Aquitanien et dans laquelle il a observé 306 espèces, dont plusieurs sont nouvelles : en outre des Champignons et des Mousses déjà mentionnés plus haut, je citerai, parmi ces types spécifiques nouveaux, un *Celtis*, un *Viburnum*, un *Ampelopsis*, une samare d'*Hiræa*, des feuilles de Célastrinées appartenant aux genres *Elæodendron*, *Maytenus*, *Evonymus*, des folioles ou feuilles de Légumineuses des genres *Inga*, *Gleditschia*, *Gastrolobium*, *Acacia*, et plusieurs fleurs ou graines classées simplement comme *Antholites* ou *Carpolites*, faute de pouvoir en préciser les affinités.

M. Menzel a, d'autre part, fait d'intéressantes recherches sur la flore de ces mêmes gisements lignitifères (5), notamment de Sulloditz et du Jesuitengraben, qui appartiennent à l'Aquitanien, et sur les Gymnospermes rencontrées aux divers niveaux de cette importante formation,

(1) R. Keller : Beiträge zur Tertiärflora der Kantons St-Gallen (III. Mittheil.) (*Ber. üb. d. Thät. d. St-Gall. naturw. Ges.*, 1894/95, p. 296-324, pl. I-XI; 1896).

(2) F. Kinkelin : Beiträge zur Geologie der Umgegend von Frankfurt. a. M. (*Ber. Senckenb. naturf. Ges.*, 1900, p. 121-166, pl. VIII, IX.)

(3) D.-H.-R. v. Schlechtendal : Beiträge zur näheren Kenntnis der Braunkohlenflora Deutschlands (*Abh. naturf. Ges. zu Halle*, XXI, p. 85-110, pl. III-VI; 1897).

(4) H. Engelhardt : Die Tertiärflora von Berand im böhmischen Mittelgebirge (*Abh. deutsch. naturw.-med. Ver. f. Böhmen Lotos*, I, Heft 3, 49 p., 3 pl.; 1898).

(5) P. Menzel : Die Flora des tertiären Polierschiefers von Sulloditz im böhmischen Mittelgebirge (*Abh. d. Isis in Bautzen*, 1896-97, 54 p., 3 pl.; 1897); Beitrag zur Kenntniss der Tertiärflora des Jesuitengrabens bei Kundratitz (*Abh. d. Isis in Dresden*, 1897, p. 3-18, pl. I); Die Gymnospermen der nordböhmischen Braunkohlenformation (*ibid.*, 1900, p. 49-69, pl. II-IV ; p. 85-110, pl. V).

Digitized by Google

depuis le Tongrien jusqu'à l'Helvétien. Les couches à tripoli de Sulloditz, dont la flore comprend 172 espèces, d'affinités surtout nord-américaines, lui ont fourni, sur ce total, 27 espèces nouvelles pour le Tertiaire de la Bohême et dix nouvelles formes spécifiques, parmi lesquelles je citerai un *Tilia*, et un fruit amygdaliforme parfaitement semblable à celui de notre Amandier commun et que l'auteur désigne sous le nom d'*Amygdalus præcommunis*. Il a trouvé de même au Jesuitengraben un Tilleul nouveau, *Tilia prægrandifolia*, et des organes floraux qui semblent appartenir, les uns à des Eléagnées, les autres à des Myrtacées.

Les Gymnospermes de ces dépôts à lignites de la Bohême, spécialement étudiées par M. Menzel, comprennent surtout des Pins, de formes variées, susceptibles d'être rapportées aux principales sections actuelles du genre, entr'autres une espèce qui ne semble différer en rien de notre *Pinus laricio*. Il convient de citer en outre, dans les argiles aquitaniennes de Preschen, des rameaux à feuilles squamiformes, portant de petits cônes, rappelant beaucoup les *Athrotaxis*, et que l'auteur désigne sous le nom générique d'*Athrotaxidium*.

La flore aquitanienne de Radoboj a fait l'objet d'un des derniers travaux de M. C. von Ettingshausen, qui en a fait connaître (1) plusieurs formes spécifiques nouvelles, notamment une Vigne, voisine du *Vitis labrusca*, un *Myrica*, très voisin de notre espèce européenne, nommé par l'auteur *Myr. palæogale*, et un Chêne à feuilles presque entières, analogue au *Quercus ilex*. C'est à ce dernier, ou du moins à un type ancestral de ce dernier, que C. von Ettingshausen avait été amené à rattacher, sous le nom de *Q. palæoilex* (2), les très nombreuses formes observées dans les couches miocènes de Parschlug en Styrie, et qui avaient été considérées comme des espèces autonomes ; le regretté paléobotaniste de Graz ne doutait pas, du reste, de l'existence de relations très étroites entre la plupart des Chênes tertiaires et leurs congénères actuels, et il a donné, dans ce dernier travail, de fort intéressantes indications à ce sujet.

La flore tertiaire de Styrie, sur laquelle il avait publié tant de documents, s'est encore enrichie de quelques observations nouvelles : M. Penecke a fait connaître, du Miocène inférieur de Limberg (3), un fragment de tige à structure conservée, à tissus exclusivement cellulaires, qui fait songer aux *Laminaria*, sans cependant qu'on puisse affirmer, n'ayant de cette tige qu'une portion périphérique incomplète, qu'on ait réellement affaire là à une Thallophyte. M. Noë von

(1) C. von Ettingshausen : Ueber neue Pflanzenfossilien in der Radoboj-Sammlung der Universität Lüttich (*Sitzungsber. k. Akad. Wiss. Wien*, Abth. I, CV, p. 473-500, 5 pl.; 1897).

(2) C. von Ettingshausen : Ueber die Nervation der Blätter bei der Gattung *Quercus*, mit besonderer Berücksichtigung ihrer vorweltlicher Arten (*Denkschr. k. Akad. Wiss. Wien*, LXIII, p. 117-180, 12 pl.; 1896.

(3) K.-A. Penecke : Ein verkieselter Pflanzenrest (*Mitth. naturw. Ver. f. Steiermark*, XXXIV, p. 1-9, pl. I, II ; 1898).

Digitized by Google

Archenegg (1) a pu étudier des coupes transversales du *Ceratophyllum tertiarium* Ett. du Miocène de Léoben et constater leur parfaite concordance de structure avec le *Cer. demersum*, ce qui atteste l'exactitude de la détermination générique ; il a fait connaître en outre la composition de la flore pliocène de Windisch-Pöllau, qui lui a fourni quelques types spécifiques nouveaux, entr'autres un *Acorus* et un *Psilotum*, ce dernier d'attribution peut-être un peu douteuse. M. F. Krasan (2) a exploré les couches tertiaires d'Aflenz et y a observé une flore miocène, renfermant de nombreux types subtropicaux ou même tropicaux, très analogue dans son ensemble à la flore miocène de Parschlug. Les flores pliocènes de Rosenberg et de Kirchbach lui ont offert une composition très différente déjà de la flore miocène, comprenant surtout des espèces arborescentes à feuilles caduques, mais très éloignée encore de la flore actuelle de la même région, les mouvements orographiques ayant depuis lors modifié considérablement les conditions climatériques. Les ressemblances que présentent avec diverses espèces tertiaires bon nombre d'espèces alpines actuelles conduisent l'auteur à penser que ces dernières, mieux protégées par la neige que les plantes des régions basses, ont mieux résisté aux changements de climat et que leur présence dans notre flore doit être attribuée, non à une immigration de date récente, contemporaine de la période glaciaire, mais à ce qu'elles se sont au contraire maintenues depuis l'époque tertiaire, en se modifiant plus ou moins.

M. Engelhardt a signalé l'existence, en Bosnie (3), de couches oligocènes et miocènes à empreintes végétales, dans lesquelles il n'a mentionné, d'ailleurs, que des espèces déjà connues ailleurs aux mêmes niveaux.

MM. Marion et Laurent ont étudié une série de plantes fossiles de Roumanie (4), comprenant, d'une part un lambeau de Fougère et un ramule de *Sequoia* provenant du Crétacé, d'autre part de nombreuses empreintes tertiaires, principalement miocènes et pliocènes, parmi lesquelles ils ont reconnu quelques formes spécifiques nouvelles, notamment un *Fagus*, un *Quercus*, un *Salix*, un *Sapindus*, un *Robinia* et un *Ilex*, ce dernier très voisin d'une espèce américaine actuelle.

(1) A. Noé v. Archenegg : *Ceratophyllum tertiarium* Ett. (*Mitth. naturv. Ver. f. Steiermark*, XXXIII, p. 3-7, 1 pl.; 1897) ; Beiträge zur Tertiärflora Steiermarks (*ibid.*, XXXV, p. 56-63, 1 pl.; 1899).

(2) F. Krasan : Die Abstammungs-Geschichte der autochthonen Pflanzenarten (*ibid.*, XXXIII, p. 8-50 ; 1897); Das Tertiärbecken von Aflenz (*ibid.*, XXXIII, p. 51-59 ; 1897).

(3) H. Engelhardt : Ueber bosnische Tertiärpflanzen (*Verh. k. k. geol. Reichsanst.*, 1900, p. 187-189).

(4) A.-F. Marion et L. Laurent : Examen d'une collection de végétaux fossiles de Roumanie (*Annuar. Mus. de Geol.*, 1895-1898, p. 187-229, pl. I, II ; 1898).

(A suivre).

450 — Lille, imp. Le Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clerquin.

Digitized by Google

INFLUENCE DU POTASSIUM

SUR LA

MORPHOLOGIE DU *STERIGMATOCYSTIS NIGRA*

par MM. M. MOLLIARD et H. COUPIN

(PLANCHE 17).

Il a été beaucoup écrit sur les variations que subissent les Champignons dans leur forme suivant les milieux sur lesquels on les fait se développer ; on a amassé de nombreux documents et on connait pour un bon nombre d'espèces les différents aspects sous lesquels ils peuvent se présenter à nous. Mais il est un point très important que les auteurs ne nous paraissent pas avoir abordé avec suffisamment de précision. Plus préoccupé en général de découvrir les formes diverses des végétaux inférieurs que de démêler les causes qui les ont produites, on a bien souvent décrit les milieux employés d'une façon incomplète, sans chercher à mettre en lumière les substances qui dans ceux-ci provoquent une certaine variation de forme. Dans un travail relatif à ce genre de recherches on verra employer, par exemple, des milieux tels que : carotte, pomme de terre, jus de pruneaux, jus d'oranges, glucose, saccharose, sel de Seignette, phosphate de potassium etc... Il est évident que l'on pourrait employer une infinité d'autres milieux ; quant à faire la synthèse des résultats obtenus, en se plaçant au point de vue du déterminisme, il n'y faut pas songer, car, dans la plupart des cas on ne peut dire si les variations constatées dans la forme sont provoquées par la *présence* d'une substance ou l'*absence* de telle ou telle autre.

Pour obtenir des résultats vraiment précis, quand on a en vue le côté physiologique de la question, il convient de ne pas prendre au hasard une série de milieux plus ou moins disparates, mais de s'adresser à des milieux parfaitement définis et d'en faire varier la composition d'une manière dès lors bien déterminée.

Ce sont ces considérations qui nous ont amenés à étudier les variations que présente dans sa morphologie le *Sterigmatocystis*

Digitized by Google

nigra, moisissure qui, en l'espèce, a l'avantage d'avoir été parfaitement étudiée quant à la nature de ses besoins nutritifs ; ceux-ci ont été fixés par le beau travail de Raulin qui subsiste tout entier, à part quelques modifications de détail que l'un de nous (1) a été conduit à y apporter, en substituant aux procédés de culture de Raulin la méthode des cultures aseptiques.

Nos cultures ont été faites dans des ballons de verre de 2 litres, renfermant 300 cc. de liquide nutritif, le tout ayant été stérilisé à l'autoclave. Dans la présente note nous ne comparerons que les résultats obtenus d'une part avec le liquide nutritif complet, d'autre part avec ce même liquide privé de potassium ; ces deux liquides étaient les suivants :

	Liquide nutritif complet	Liquide nutritif sans potassium
	—	—
Eau	1.500	1.500
Saccharose	70	70
Acide tartrique	4	4
Carbonate de magnésium	0,4	0,4
Phosphate d'ammonium	0,6	0,6
Sulfate d'ammonium	0,25	0,25
Azotate d'ammonium	4	4
Carbonate de potassium	0,6	0

« L'aspect général des cultures est tout différent lorsqu'on s'adresse au *Sterigmatocystis* développé dans le liquide nutritif complet ou au Champignon que l'on a privé de potassium. Dans ce dernier cas, le tapis mycélien est peu épais, non consistant ; quand les spores se sont développées, la surface supérieure, au lieu d'être d'un noir uniforme comme dans le liquide normal, est d'une teinte cendrée violacée ; les appareils conidiens sont clairsemés et apparaissent comme cotonneux.

» Nous voyons déjà que l'absence de potassium a une influence manifeste sur l'intensité du phénomène de sporulation, mais c'est surtout dans la constitution des appareils conidiens que cette influence est remarquable. Rappelons que, dans le liquide renfermant du potassium, ces derniers sont constitués (fig 1) par une tête renflée T portant une série de *basides b* qui, elles-mêmes, se différencient en un certain nombre de filaments ou *stérigmates et* qui donnent naissance aux conides.

» Lorsque le Champignon est privé de potassium, la régularité

(1) H. Coupin : *Sur la nutrition du* Sterigmatocystis nigra (C. R. Acad. Sc. 1903, 1er sem.)

Digitized by Google

de forme des appareils conidiens disparaît et ceux-ci subissent des modifications, très variables dans le détail, mais qui peuvent se ramener à trois types principaux :

» 1° *Transformation des basides ou des stérigmates en filaments mycéliens.* — A côté de basides restant normales et dont les stérigmates portent des spores plus petites que les spores apparaissant en présence du potassium et surtout à exine beaucoup moins fortement colorée, on voit certaines basides s'allonger en des filaments qui dépassent de beaucoup le contour général de l'appareil conidien (fig. 4).

» 2° *Formation d'appareils conidiens sur les filaments issus des basides.* — Certains filaments, dont nous venons d'indiquer l'origine, se renflent, à une grande distance de leur point d'origine, en des têtes secondaires (fig. 3, T_2) plus petites que la tête primitive T_1 ; ces têtes secondaires ne portent généralement aucune baside ; ce sont des stérigmates qui s'insèrent directement sur elles et portent chacun un chapelet de spores, le plus souvent peu nombreuses (fig. 6) ; remarquons que ces appareils conidiens secondaires réalisent la disposition des *Aspergillus*.

» Certains des stérigmates des têtes secondaires T_2 peuvent, à leur tour, se développer en des filaments mycéliens qui redonnent des appareils conidiens de troisième ordre T_3, plus rudimentaires que les précédents et subissant encore le même phénomène de prolifération (fig. 5). Les filaments nés sur les têtes de deuxième ou de troisième ordre peuvent présenter à leur extrémité, au lieu d'une tête renflée, une ramification plus ou moins abondante, qui rappelle la disposition qu'on observe normalement dans le genre *Penicillium* (fig. 7 et 9).

» 3° *Germination sur place des conidies.* — Dans les cultures âgées de 3 mois environ, on voit apparaître sur les appareils conidiens une masse floconneuse, ayant une autre origine que les filaments que nous venons de décrire et au milieu desquels elle se trouve maintenue ; elle provient de la germination sur place, et dans l'atmosphère, d'un certain nombre de conidies (fig. 11, 12, 13, 14). Cette germination aboutit plus ou moins directement à la formation de cellules renflées, à parois épaisses, c'est-à-dire de *chlamydospores*. La conidie peut se transformer presque de suite en une chlamydospore *ch* (fig. 11 *d*) ; elle fait éclater son exine *ex*,

Digitized by Google

qui subsiste sur le côté, et prend une forme subsphérique, son diamètre s'accroissant de quatre fois environ.

» Plus souvent, la conidie germe en un filament de longueur variable (fig. 12) et c'est ce dernier qui se ramifie brièvement et se renfle irrégulièrement en une ou plusieurs chlamydospores *ch* (fig. 12 *b*).

» On n'obtient jamais de pareilles germinations sur les cultures opérées en liquide non privé de potassium. »

Nous avons dit que nous opérions nos cultures dans des ballons de 2 litres contenant 300 cc. de liquide ; ce détail a son importance ; si on répète en effet les expériences avec de petites quantités de liquide les résultats obtenus peuvent être en contradiction avec les précédents ; c'est ainsi que dans des cellules Van Tieghem on observe rarement les formes tératologiques prolifères que nous venons de décrire ; en opérant des cultures avec une petite quantité de liquide privé de potassium dans des boîtes Pétri on peut observer les formes aberrantes au milieu de la culture alors que contre la paroi du verre le *Sterigmatocystis* apparaît avec ses caractères normaux ; nul doute qu'il se produise une attaque de la paroi du verre et que dans cette région la moisissure retrouve l'élément qui lui manque au centre.

La prolifération des appareils sporifères que nous venons de rapporter à l'absence du potassium a déjà été signalée par divers auteurs chez des *Aspergillus* ou des *Sterigmatocystis*. C'est ainsi que Ray (1) a décrit des phénomènes analogues pour le *St. alba* dont il a étudié les variations en le cultivant sur les milieux suivants : carotte, pomme de terre, gélatine nutritive, glucose, lévulose, saccharose au cinquantième, azotate de potassium et d'ammonium, phosphate de potassium et d'ammonium au vingt-cinquième etc...

Sur carotte et sur pomme de terre les fructifications obtenues sont normales, le champignon y trouvant tous les éléments nécessaires à son développement ; le glucose seul constitue un aliment très incomplet puisqu'il ne contient pas d'azote, de soufre, de phosphore, de magnésium, de potassium, ou du moins ces substances ne sont susceptibles d'y exister qu'en quantités infimes, apportées à l'état d'impuretés des produits employés ou avec les

(1) Ray : *Variations des Champignons inférieurs sous l'influence du milieu* (Rev. gén. de Bot. 1897).

Digitized by Google

spores d'ensemencement ; il est donc impossible de rapporter à l'action du glucose les modifications observées et qui se résument en une ramification verticillée d'un filament dressé. On peut faire la même remarque à propos du saccharose employé seul comme aliment, et des diverses solutions salines ; les modifications de forme observées peuvent être intéressantes à signaler en elles-mêmes ; mais elles proviennent évidemment du manque de certains éléments et non de la présence du corps pris isolément comme milieu de culture.

Les mêmes considérations retrouvent leur place à propos des formes observées par Beauverie (1) sur l'*Aspergillus variabilis* et dont certaines rappellent encore les proliférations que nous avons décrites ; l'auteur les a étudiées en elles-mêmes, sans que de l'examen des milieux employés on puisse conclure à l'action de tel ou tel élément.

En résumé, la privation de potassium entraîne dans la morphologie du *Sterigmatocystis nigra* des modifications qui portent surtout sur les appareils conidiens.

« *a*. Les spores ont une grande difficulté à se former et les têtes conidiennes profilèrent abondamment.

» *b*. On observe à la fois des appareils conidiens de structure correspondant aux genres *Sterigmatocystis*, *Aspergillus* et *Penicillium*.

» *c*. Lorsqu'elles arrivent à se constituer, les conidies sont plus petites et moins cutinisées.

» *d*. Elles germent sur place en donnant des chlamydospores. »

EXPLICATION DE LA PLANCHE 17

(Toutes les figures correspondent à un grossissement de 400 diamètres).

Signification des lettres communes : T, tête sporifère ; *b*, baside ; *st*, stérigmate ; T_2, T_3, têtes sporifères de deuxième et troisième ordres ; *sp*, spore ; *ex*, exine ; *ch*, chlamydospore.

Les figures 1, 2, 10 correspondent au *Sterigmatocystis nigra* cultivé dans le liquide nutritif complet.

Les figures 3-9 et 11-14 correspondent au *Sterigmatocystis nigra* cultivé dans le même liquide privé de potassium.

(1) J. Beauverie : *Études sur le polymorpismeh des Champignons*. Paris, 1900.

Digitized by Google

RECHERCHES CHIMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES

SUR

LA DIGESTION DES MANNANES ET DES GALACTANES,

par la séminase,

CHEZ LES VÉGÉTAUX

par Henri HÉRISSEY *(Suite)*

Individualité de la séminase. — Les transformations des mannanes et des galactanes, qui ont été décrites jusqu'à présent dans ce travail, présentent assez nettement le caractère d'être accomplies par des ferments solubles pour qu'il soit inutile d'insister sur ce point spécial : les expériences ont été constamment accompagnées d'essais témoins, dans lesquels l'agent hydrolytique s'est toujours montré inactif, lorsqu'il avait été préalablement soumis à l'action de la chaleur humide ; et, d'autre part, les actions fermentaires étudiées ont été soigneusement mises à l'abri de toute cause d'erreur pouvant provenir de l'invasion des microorganismes.

C'est donc à l'action d'un ferment, ou mieux d'un groupe de ferments que revient la transformation des mannanes et des galactanes en sucres correspondants, mannose et galactose. Comme ce ferment paraît se rencontrer dans beaucoup de semences, et que, de plus, les hydrates de carbone des albumens cornés ont été quelquefois appelés *séminine*, nous l'avons désigné antérieurement, M. Bourquelot et moi, du nom de *séminase*, et nous l'avons précisément défini : *le ferment soluble (ou ensemble de ferments solubles) qui déterminent la transformation des hydrates de carbone de réserve de l'albumen corné des Légumineuses en sucres assimilables.*

Digitized by Google

Ce ferment, extrait de graines en germination, présente sans contredit une composition éminemment complexe. La période de germination correspondant à une utilisation active des matériaux de réserve accumulés précédemment dans les cotylédons et dans l'albumen, il s'ensuit qu'il doit se produire, à ce moment, un grand nombre de diastases susceptibles d'agir sur toutes les catégories d'aliments, hydrates de carbone, matières albuminoïdes, matières grasses, que la graine peut contenir. C'est ainsi que la diastase du malt vert n'est pas seulement susceptible de saccharifier l'amidon en déterminant sa transformation en dextrines et maltose, mais peut également hydrolyser le tréhalose et saccharifier les pectines (1)

Quiconque a fait des recherches quelque peu étendues dans le groupe des ferments a pu s'apercevoir de la difficulté de se procurer un ferment bien déterminé, qui possédât l'unique propriété visée par l'expérimentation. Il faut bien reconnaître que les ferments solubles sur lesquels on a l'habitude d'opérer sont en réalité des mélanges variables de principes immédiats divers, dont une très faible fraction sans doute représente le produit à étudier.

La coexistence de diastases différentes dans une même sécrétion animale ou végétale rend particulièrement difficiles les recherches qui tendent à faire la preuve de l'individualité d'un ferment soluble quelconque. Dans ces conditions, la question ne peut être abordée que par une expérimentation indirecte, susceptible d'ailleurs de fournir des résultats tout à fait concluants.

C'est ainsi qu'a été résolu le problème de l'individualité de la séminase. Je ne reviendrai pas sur le détail des recherches que M. Bourquelot et moi (2) avons publiées sur ce sujet ; j'indiquerai seulement les résultats auxquels ces recherches ont conduit.

Si l'on traite par la diastase de l'Orge germée un empois préparé avec un albumen corné de Légumineuses, on constate une fluidification lente et une saccharification partielle de l'empois. Cette action, à vrai dire, paraît dès l'abord moins énergique que celle

(1) Em. Bourquelot et H. Hérissey : Sur la présence dans l'Orge germée d'un ferment soluble agissant sur la pectine ; *C.-R. Ac. Sc*, CXXVII, p. 191, 1898 ; *Bull. Soc. Biol.*, p. 777, 1898 ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], VIII, p. 145, 1898.

(2) Em. Bourquelot et Hérissey : Sur l'individualité de la « séminase », ferment soluble sécrété par les graines de Légumineuses à albumen corné pendant la germination ; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXX, p. 340, 1900 ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], XI, p. 357, 1900.

Digitized by Google

qui est provoquée par la graine de Luzerne germée, mais elle est réelle, constante, et de même nature que cette dernière. Il y avait donc lieu de se demander si la diastase proprement dite (ferment ou ensemble de ferments saccharifiant l'amidon) et le ferment sécrété par la graine de Légumineuses à albumen corné sont identiques.

Nous avions déjà traité l'albumen de Caroubier par de la salive riche en diastase (amylase) et nous n'avions constaté aucune action. C'était là un premier argument en faveur de la non-identité, argument que nous avons tenu à appuyer des résultats de plusieurs séries de recherches effectuées dans des conditions assez variées, avec les ferments produits dans la germination de trois espèces de Légumineuses, Luzerne, Fenugrec et Genêt commun.

Dans une première série d'expériences, on a fait agir dans les mêmes conditions de temps et de température, sur des empois identiquement préparés de fécule de pomme de terre, d'une part la diastase de l'Orge germée, d'autre part la macération aqueuse de graine germée de Légumineuses ou même le produit précipité de cette macération par l'alcool. Dans une deuxième série d'expériences, on a fait agir les mêmes ferments sur des empois identiquement préparés d'albumen de Caroubier.

Les résultats de toutes les expériences ont présenté un ensemble d'une concordance parfaite. On a vu ainsi que, tandis que la diastase employée agit rapidement sur l'amidon et lentement sur l'albumen de Caroubier, c'est le contraire qui a lieu pour le ferment des Légumineuses en germination qui hydrolyse lentement l'amidon et rapidement les hydrates de carbone de l'albumen.

La meilleure interprétation de ces faits consiste à admettre : 1° que les graines germées des Légumineuses étudiées contiennent, outre une petite quantité de diastase proprement dite, une proportion beaucoup plus grande d'un ferment soluble particulier, la séminase, agissant sur les hydrates de carbone de l'albumen corné des Légumineuses ; 2° que l'Orge germée, au contraire, renferme à côté d'une grande quantité de diastase amylolytique, une faible proportion de séminase.

En faveur de l'individualité de la séminase, j'ajouterai encore que le liquide qui contient les ferments excrétés par l'*Aspergillus niger* ne possède, comme on l'a vu précédemment, qu'une action

Digitized by Google

extrêmement faible sur les mannanes et les galactanes de l'albumen de Caroubier. Or, ce liquide est susceptible d'agir énergiquement sur le saccharose, le maltose, le tréhalose, les glucosides, l'inuline, l'amidon ; la séminase ne saurait donc être confondue avec l'invertine, la maltase, la tréhalase, l'émulsine, l'inulase ; en même temps, cette expérience nous fournit une nouvelle preuve de la non-identité de la séminase et de la diastase du malt.

Mode et conditions d'action de la séminase. — Si l'on doit admettre que la séminase est distincte de la diastase de l'Orge germée et possède une individualité propre, il ne s'ensuit pas qu'on doive la considérer comme un ferment unique, comparable par exemple à l'invertine ou sucrase. La complexité des principes sur lesquels elle agit est un signe presque assuré de sa propre complexité.

En premier lieu, les hydrates de carbone des albumens cornés des Légumineuses ne sont pas, ainsi qu'en témoignent les recherches analytiques, des principes définis au point de vue chimique, mais bien plutôt des mélanges de principes immédiats. En d'autres termes, il ne semble pas qu'on ait affaire à des manno-galactanes susceptibles de donner à l'hydrolyse par les acides un nombre déterminé de molécules de mannose pour un nombre également déterminé de molécules de galactose. Il semble bien plutôt qu'il s'agisse de mélanges, en proportions variées, de mannanes et de galactanes. Dans ces conditions, nous sommes donc amenés à cette idée qu'il doit déjà exister dans la séminase au moins deux ferments, l'un agissant sur les mannanes, l'autre saccharifiant les galactanes.

Les connaissances acquises à l'heure actuelle nous autorisent même à penser qu'il s'agit non de deux ferments individuels, mais bien de deux groupes de ferments. En effet, en dehors de cette circonstance que les mannanes et les galactanes se présentent à des états différents de condensation moléculaire, comme en témoignent les résultats de leur hydrolyse effectuée par les acides minéraux étendus et bouillants, en admettant même un produit unique de condensation déterminée pour chacun de ces hydrates de carbone, on ne saurait concevoir comme simples les ferments respectifs qui les hydrolysent. La séminase à ce point de vue peut être

Digitized by Google

comparée à la diastase ordinaire qu'on ne peut considérer comme un ferment simple, mais bien plutôt comme une superposition de ferments ; les actions provoquées par ces derniers ne seraient pas simultanées, mais successives (1), chacun d'eux exerçant son action seulement sur certaines des modifications moléculaires subies par l'amidon au cours de sa dégradation.

Il y a là à effectuer sur la séminase toute une série de recherches que j'espère pouvoir aborder un jour ; on comprend du reste que ces recherches ne pourront guère être mises en train qu'après toute une série de travaux préparatoires dont le but sera de préciser et de tracer nettement les limites de l'expérimentation, si l'on ne veut pas se perdre dans la résolution d'un problème que sa complexité empêche d'aborder directement.

Si l'on songe à toutes les indécisions qui pèsent encore sur les questions relatives au mode et aux conditions d'action de la diastase du malt, malgré toutes les recherches dont ce ferment a été l'objet depuis sa découverte qui remonte au commencement de de ce siècle, on voudra bien me pardonner de n'avoir apporté à la connaissance du mode et des conditions d'action de la séminase que des documents évidemment incomplets.

Les difficultés sont encore plus grandes en effet que celles qu'on rencontre dans l'étude de la diastase proprement dite. Tandis qu'il est facile de se procurer un produit bien défini comme composition, l'amidon, sur lequel on peut faire agir cette diastase, on ne connaît par contre, à l'heure actuelle, aucune mannane ou aucune galactane chimiquement déterminées qui permettent, avec la séminase, d'instituer des expériences décisives, relativement aux différentes conditions de milieu suivant lesquelles est susceptible de s'exercer l'action hydrolysante du ferment considéré. L'étude de l'influence des agents physiques sur ce dernier ne peut donc donner que des résultats d'un ordre tout à fait général.

Une autre difficulté qui se rattache à celle qui vient d'être énoncée réside dans l'étude des produits de transformation, par voie diastasique, des mannanes et des galactanes. L'analyse effectuée en dosant les produits réducteurs formés, donne des

(1) Voir à ce sujet les idées générales exprimées par M. Bourquelot dans un article récent : Sur l'hydrolyse des polysaccharides par les ferments solubles; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], XIV, p. 579, 1902.

Digitized by Google

résultats globaux tout à fait insuffisants, puisque ces produits réducteurs sont constitués par des mélanges de principes immédiats. Le dosage du galactose, en présence de galactanes dont on ignore l'état de condensation, présente un certain degré d'incertitude très regrettable au point de vue scientifique. Seul le dosage du mannose nous donne pleine satisfaction à cause de la précision dont il est susceptible, et de la facilité relative de son exécution ; encore est-il que ce dosage ne peut être effectué que dans des mélanges convenablement préparés, et qu'il se trouve par exemple tout à fait en défaut dans le cas de saccharification diastasique trop incomplète des mannanes et des galactanes. Néanmoins, comme on peut le voir à la lecture de ce travail, la méthode de recherche du mannose par l'acétate de phénylhydrazine est d'un secours précieux dans l'ordre des recherches qui nous occupent, et c'est surtout à elle que j'ai eu recours à cause de la netteté de ses résultats.

Malgré les restrictions que je viens de faire, relativement à la difficulté de l'étude du mode et des conditions d'action de la séminose, il est possible cependant de présenter dès maintenant comme définitives certaines observations générales qui découlent naturellement de la comparaison de nombreuses expériences faites dans des conditions aussi variées que possible, dans le but de vérifier tel ou tel point déterminé. Je dois faire remarquer que ces observations s'appliquent exclusivement à l'hydrolyse des mannanes et des galactanes des albumens des Légumineuses par des ferments des graines de cette famille, ou encore à l'hydrolyse des mannanes des Orchidées par la même séminase.

Un fait intéressant à signaler, c'est que la séminase est susceptible d'exercer son action sur les hydrates de carbone des albumens cornés des Légumineuses ou sur les mannanes des Orchidées sans que ces matières de réserve aient subi préalablement une modification analogue à celle qui est nécessaire pour que la diastase du malt puisse saccharifier l'amidon (1). Autrement dit, la matière

(1) D'après Baranetzky (Die Stârkeumbildende Fermente in den Pflanzen, Leipzig, 1878) la diastase, en milieu très légèrement acide, serait susceptible de dissoudre l'amidon cru ; quoi qu'il en soit, l'action du ferment ne saurait être comparée dans ce cas à celle incomparablement plus énergique que ce dernier exerce sur l'amidon préalablement transformé en empois.

Digitized by Google

digestible, sans avoir subi de transformation en empois, peut être facilement hydrolysée par la séminase. On verra précisément, au chapitre suivant, des confirmations très probantes de ce résultat.

Les albumens traités par l'alcool bouillant, puis séchés, ne paraissent pas éprouver, de ce fait, une modification quelconque dans la façon de se comporter vis-à-vis de la séminase.

La transformation préalable de l'albumen en empois, avant l'addition de séminase, présente cet avantage qu'elle permet de suivre pour ainsi dire des yeux les premiers stades de l'action du ferment. Le phénomène qu'on observe d'abord est en effet une liquéfaction totale de la masse, liquéfaction qui se produit avec une vitesse variable suivant l'activité de l'agent fermentaire, mais qui est en tout cas moins rapide, au moins dans les expériences que nous avons réalisées, que celle que détermine une diastase énergique sur l'empois d'amidon.

Au moment de la liquéfaction, le liquide ne contient encore que des traces à peine appréciables de sucre réducteur ; il précipite abondamment par l'alcool et le précipité obtenu soumis à l'hydrolyse par l'acide sulfurique étendu et bouillant, donne du mannose et du galactose. Peu à peu, la proportion de substances réductrices contenues dans le mélange s'accroît, en même temps que diminue corrélativement celle des matières précipitables par l'alcool. L'action est susceptible de se poursuivre pendant plusieurs jours et même plusieurs semaines vers 30°-35°, c'est-à-dire à la température à laquelle, d'une façon générale, j'ai pratiqué mes essais (1). Quoi qu'il en soit, on n'arrive jamais à obtenir une quantité de matières réductrices égale à celle que donne la saccharification par les acides. Alors que l'hydrolyse sulfurique de l'albumen de Caroubier sec permet d'obtenir facilement 70 pour 100 de matières réductrices (exprimées en dextrose), on n'est guère arrivé avec la séminase à en obtenir plus de 50 à 55 pour 100).

A un point de vue tout à fait général, ce fait peut d'ailleurs

(1) Il était impossible, pour les raisons exposées plus haut, de songer à déterminer avant ces recherches l'optimum de température de l'action de la séminase, optimum qui doit varier d'ailleurs suivant le milieu dans lequel le ferment exerce son action, et aussi suivant la nature et la composition des produits susceptibles d'être digérés. En choisissant la température indiquée, j'ai eu en vue de favoriser, autant que possible, la marche d'action du ferment, tout en prenant garde de provoquer sa destruction.

Digitized by Google

s'expliquer assez facilement. Les ferments solubles sont des agents qui permettent aux êtres vivants d'utiliser des matériaux nutritifs ingérés ou mis en réserve, en réglant suivant les besoins physiologiques la consommation de ces derniers. Il en résulte que les hydrolyses que provoquent les ferments sont des hydrolyses ménagées, plus ou moins rapides suivant les nécessités de la nutrition, et qui ne peuvent être identifiées physiologiquement avec celles qui sont déterminées d'une façon totale par les agents chimiques, comme les acides minéraux étendus et bouillants.

Au cours de l'action fermentaire, le dosage des matières réductrices doit être effectué dans des conditions déterminées, si l'on veut obtenir des résultats susceptibles d'être comparés entre eux. Si par exemple, on verse dans le réactif cupro-potassique bouillant la liqueur résultant d'une saccharification diastasique peu avancée d'un albumen de Légumineuse, on constate que les hydrates de carbone liquéfiés, mais non encore amenés à une dégradation moléculaire suffisante, sont susceptibles de donner avec le réactif un précipité plus ou moins gélatineux. Ce précipité se dissocie peu à peu au cours de l'ébullition du liquide et se résout finalement en un dépôt assez peu volumineux occupant le fond du vase dans lequel on opère. Le dosage des matières réductrices présente, dans ces conditions, des difficultés qui disparaissent à peu près complètement lorsque la saccharification de l'albumen a été poussée suffisamment loin. Lorsque la saccharification est encore à ses premiers termes, on se trouve souvent dans la nécessité de traiter le liquide à essayer par deux ou trois volumes d'alcool fort, de filtrer et de ramener par évaporation au volume primitif ou à un volume déterminé. Les résultats obtenus par cette méthode peuvent être comparés entre eux. Il convient de dire cependant qu'ils ne sont pas toujours exprimés par les mêmes nombres que ceux qui résultent du dosage effectué dans le liquide primitif lui-même. En fait, j'ai trouvé, dans certaines expériences, que le précipité produit par l'alcool, lavé dans ce dernier dissolvant, puis repris par l'eau, était susceptible de réduire la liqueur de Fehling.

Deux hypothèses peuvent être faites à ce sujet ; ou bien ces produits sont réducteurs par eux-mêmes, ou bien ils le deviennent par suite de l'ébullition qu'on leur fait subir en présence de ce dernier réactif. Quelle que soit l'alternative qui corresponde à la

Digitized by Google

réalité des faits, il importe à l'expérimentateur d'être prévenu de la nécessité d'opérer les dosages dans des conditions strictement déterminées s'il a l'intention d'établir entre plusieurs séries d'expériences des résultats comparatifs.

Corrélativement à l'action liquéfiante et saccharifiante de la séminase sur les hydrates de carbone des albumens des Légumineuses, on observe des variations correspondantes dans le pouvoir rotatoire des matériaux en solution. Ces variations, que la logique seule aurait permis de prévoir à défaut de l'expérimentation, ne pourraient être étudiées avec profit que dans la digestion d'une mannane ou d'une galactane bien définie et isolée à l'état pur ; c'est là une circonstance qui n'a pas encore été réalisée, ainsi que je l'ai déjà fait remarquer.

En somme, la marche de l'action de la séminase présente de nombreux points communs avec celle de la diastase du malt sur l'amidon. En dehors de ce caractère différentiel tout à fait net que possède la séminase de pouvoir agir énergiquement sur les hydrates de carbone qui n'ont pas subi le contact préliminaire de l'eau bouillante, on constate dans l'ensemble des phénomènes observés des rapports tout à fait étroits avec ceux qu'on peut constater dans la saccharification des matières amylacées : liquéfaction de la matière à digérer, puis dégradation successive de la molécule de cette dernière en produits qui, précipitables à l'origine par l'alcool, perdent ensuite ce caractère spécial, pour donner finalement des sucres tout à fait simples, plus simples même que le maltose.

Il y a à ce dernier point de vue une hypothèse tout à fait séduisante qui se présente à l'esprit. Qu'on suppose que la diastase de l'Orge contienne, mélangée à sa masse, une certaine proportion de maltase ; dans ces conditions, le produit ultime de son action, en dehors des achroodextrines, sera du glucose et la formation du maltose aura pu passer inaperçue. Dans la dégradation des mannanes et des galactanes sous l'action des ferments, n'est-il pas permis de supposer qu'à un certain moment de l'action, il n'existe pas encore du mannose ou du galactose, mais des sucres plus complexes composés de une ou plusieurs molécules de mannose ou de galactose, sucres qui subissent à leur tour, du fait de certains ferments spéciaux contenus dans la séminase, la dégradation ultime en termes simples, qui sont les hexoses correspondants. C'est la

Digitized by Google

pensée de cette hypothèse qui a guidé mes recherches lorsque, presque à chaque essai, non content de caractériser le mannose à l'état de mannosehydrazone, j'ai pris soin de déterminer exactement le produit sucré qui s'était combiné à la phénylhydrazine, en le régénérant de son hydrazone par l'adéhyde benzoïque. L'expérience ne m'a pas fourni jusqu'à présent le polymannose soupçonné, mais il n'est pas déraisonnable de penser qu'il peut cependant exister.

On a vu, dans l'aperçu général du chapitre premier, combien les mannanes ou les galactanes qu'on peut rencontrer dans le règne végétal sont susceptibles de différer les unes des autres. L'hydrolyse par les acides permet bien d'obtenir avec ces produits du mannose ou du galactose, mais c'est là le seul caractère qui permet de réunir tous ces principes immédiats dans un même groupe. Les uns sont solubles dans l'eau ou s'y gonflent fortement, tels les hydrates de carbone des albumens des Légumineuses ; les autres sont tout à fait insolubles et impénétrables à l'eau, telles les matières ternaires qui constituent la presque totalité de l'albumen de certains Palmiers. Il résulte de ces différences qu'il ne suffit pas qu'un corps donne à l'hydrolyse du mannose et du galactose pour qu'il soit susceptible d'être saccharifié par la séminase, avec production de ces derniers sucres, pas plus que la diastase de l'Orge additionnée de maltase, qui cependant donne du dextrose avec l'amidon, n'est capable de transformer la cellulose en ce même dextrose qui peut cependant en être retiré par l'hydrolyse chimique. La séminase n'agit donc pas sur toutes les mannanes et sur toutes les galactanes. Les ferments de la Luzerne se sont montrés par exemple complètement inactifs sur les hydrates de carbone de l'albumen de la graine de *Phœnix canariensis*. Des essais directs peuvent seuls permettre d'affirmer l'action de la séminase sur un groupe déterminé de mannanes et de galactanes. Il faut bien, en cette matière, se garder de trop généraliser. Si le processus d'utilisation physiologique des matières de réserve qui nous occupent paraît bien être partout le même, il ne s'ensuit pas que ce soit partout aussi un ferment identique qui entre en jeu. On peut même hardiment affirmer le contraire.

Comme tous les ferments solubles, ainsi qu'on l'a déjà vu, la séminase peut être précipitée de ses solutions aqueuses par

Digitized by Google

l'alcool, mais elle partage le sort de ces derniers d'être affaiblie dans son activité par ce traitement. Si l'on prend la poudre de Luzerne germée et séchée à basse température, comme source de séminase, on peut faire agir sur des empois identiques d'albumen de Caroubier ou de Févier d'Amérique, d'une part la poudre de Luzerne elle-même, d'autre part la macération aqueuse correspondant à un même poids de produit, et d'autre part le précipité déterminé par l'alcool dans un volume de macération égal à celui de l'expérience précédente, précipité recueilli sur un filtre et séché dans le vide sur l'acide sulfurique. On constate alors que l'activité fermentaire la plus considérable réside dans la poudre elle-même, qu'elle a beaucoup décru dans le produit précipité, et qu'elle est intermédiaire dans la macération aqueuse.

La filtration des solutions de séminase à travers la bougie poreuse, sans détruire complètement l'activité fermentaire, l'affaiblissent cependant à un tel point que cette filtration serait inutilisable dans le cas par exemple où l'on serait tenté d'opérer avec des solutions fermentaires rendues stériles par ce procédé.

Une légère acidité, telle que celle qui existe d'une façon générale dans les tissus végétaux, paraît favoriser l'action de la séminase. Si l'on ajoute du carbonate de chaux pour neutraliser cette acidité, on constate un affaiblissement considérable de la saccharification.

Les antiseptiques se comportent avec la séminase, comme avec les autres enzymes ; ils n'arrêtent pas l'action du ferment sur les mannanes ou les galactanes. On peut néanmoins constater de grandes différences suivant l'antiseptique choisi. Le chloroforme, qui a été employé dans nos premières expériences, présente des désavantages qui nous portent à le déconseiller, maintenant que nous avons acquis sur le sujet qui nous occupe des connaissances plus exactes qu'au début de nos recherches. En premier lieu, la présence du chloroforme n'est pas sans inconvénient lorsqu'il s'agit d'effectuer un dosage de matières sucrées au moyen de la liqueur de Fehling ; comme il est lui-même réducteur, il importe, si l'on veut tabler avec certitude sur les résultats obtenus, de procéder préalablement à son élimination préalable, par exemple par évaporation de la liqueur.

En second lieu, ce qui est plus grave, le chloroforme, dans des

Digitized by Google

expériences comparatives que j'ai faites avec d'autres antiseptiques, comme le fluorure de sodium ou le toluène, est apparu comme ralentissant considérablement l'action de la séminase. Il est donc préférable, comme je l'ai fait dans la plupart de mes essais, d'employer, contre l'invasion des microorganismes, l'un ou l'autre des deux derniers antiseptiques cités. Le toluène présente le grand avantage de pouvoir être complètement éliminé par l'action de la chaleur; il n'entre du reste en solution qu'à l'état de traces dans les mélanges fermentaires auxquels il est bon de l'ajouter d'ailleurs en excès (1^{cc} à $1^{cc},5$ pour 100^{cc} de liquide).

Certains antiseptiques comme le phénol et le thymol sont totalement à rejeter; l'action défavorable de ces deux derniers antiseptiques sur l'action fermentaire est encore plus grande que celle du chloroforme.

(A suivre).

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX

DE PHYSIOLOGIE ET DE CHIMIE

VÉGÉTALES

PARUS DE 1893 à 1900 (*Suite*)

Les *albumens cornés* sont des tissus morts et ne peuvent agir dans la digestion des réserves; c'est l'embryon seul qui fait tout le travail. D'après Leclerc du Sablon (1), les diastases sécrétées par les cotylédons et qui attaquent la cellulose ne pénètrent pas dans l'albumen ; leur action ne s'exerce que dans la région de contact des cotylédons et de l'albumen. Seule la diastase qui donne lieu à la production d'acides gras passe des cotylédons dans l'albumen et commence la digestion des matières grasses.

Bourquelot et Hérissey (2) ont étudié la germination des graines à albumen dont les membranes sont épaissies et riches en mucilage; ils ont trouvé que chez le Caroubier, par exemple, il y a formation de galactose et de mannose. Chez la Luzerne et le Fenu grec il y a aussi une substance hydrocarbonée qui, par interversion à l'aide des acides étendus, donne les mêmes produits.

Les bulbes et les tubercules, qui sont aussi très riches en substances de réserve, présentent des phénomènes analogues à ceux qui se passent dans les graines.

Puriewitch (3) a montré que ces organes privés de leurs yeux ou bourgeons sont capables de solubiliser leurs réserves comme cela a lieu dans les graines lorsque l'embryon est excisé.

Leclerc du Sablon (4) a étudié longuement les phénomènes digestifs des bulbes et des tubercules. Les réserves accumulées dans ces organes sont essentiellement de l'amidon chez les rhizomes d'*Arum* et d'*Iris*, les tubercules de Colchique et de Renoncule, de l'amidon et des dextrines dans les tubercules d'*Ophrys*, les bulbes de Lis, de Tulipe et de Jacinthe, de l'amidon, de la dextrine et des sucres non réducteurs dans les tubercules de Ficaire, de l'inuline et du lévulose dans le *Dahlia*, de

(1) Leclerc du Sablon : *Revue générale de Botanique*; 1895; p. 307.

(2) Bourquelot et Hérissey : C. R. CXXIX, 614, et CXXX, 731.

(3) Puriewitch : Ber. d. deut. chem. Gesell. XIV.

(4) Leclerc du Sablon : *Recherches sur les réserves hydrocarbonées des bulbes et des tubercules* (Revue générale de Botanique, 1898, pp. 353, 385, 447, 519).

Digitized by Google

l'inuline, de la lévuline et des sucres non réducteurs dans le Topinambour, des sucres réducteurs et non réducteurs dans l'Asphodèle.

Les réactions qui se produisent au moment de la germination dans les bulbes et les tubercules présentent une remarquable uniformité. L'amidon se transforme en dextrine, puis en sucres non réducteurs, puis en sucres réducteurs. L'inuline se conduit comme l'amidon, mais donne d'abord de la lévuline et non de la dextrine ; de plus le dernier terme de la digestion est du lévulose et non du glucose. Le sucre de canne est également transformé en sucre réducteur. La galactane du *Stachys*, intermédiaire par ses propriétés à la dextrine et au sucre, semble être assimilée directement.

Ces réserves sont solubilisées et digérées grâce à une action diastasique qu'on peut mettre en évidence. Cette action est inverse de celles qui aboutissent à la formation des réserves hydrocarbonées. Le point de départ de cette formation paraît être un sucre non réducteur. Il y a là une certaine analogie avec ce qui se passe dans les fruits charnus où les sucres non réducteurs se forment d'abord tandis que les sucres réducteurs apparaissent plus tard et proviennent de la transformation des premiers. L'inuline et la lévuline se conduisent à ce point de vue comme l'amidon et la dextrine. La galactane du *Stachys* qui est assimilée directement se forme aussi directement.

Quand les tubercules et les bulbes sont bisannuels, les réserves se forment pendant la première année ; il y a ensuite une période de repos, puis, pendant la seconde année, la digestion se produit. Mais dans les rhizomes d'*Iris* et d'*Arum* la vie dure plus de deux ans ; l'organe de réserve passe par des alternatives de vie active et de vie ralentie et sa composition chimique se modifie régulièrement ; la proportion de réserves passe par un minimum au début de la période de vie active et par un maximum au commencement de la vie ralentie. La vie ralentie coïncide avec la saison la plus sèche. Mais le repos, dans ces organes, est plus apparent que réel ; si la végétation est arrêtée, les transformations internes n'en sont pas moins actives, grâce aux diastases produites par le protoplasma. D'autre part, le moment de la floraison ne correspond pas toujours à une grande activité interne ; chez le Colchique, l'Asphodèle, la Renoncule, la floraison marque pour les réserves, le commencement de la vie ralentie.

Chez les plantes bisannuelles, la quantité d'eau est très forte dans les jeunes organes de réserve ; elle diminue au fur et à mesure que les réserves se constituent, passe par un minimum pendant la période de repos, augmente rapidement au moment de la reprise de la végétation et s'accroît jusqu'à ce que les réserves soient complètement épuisées.

Dans les organes de réserve vivaces, on trouve toujours une grande proportion d'eau aux époques de la formation et de la destruction finale des réserves ; entre ces deux extrêmes, la proportion d'eau subit des variations périodiques annuelles en rapport avec l'état de la végétation.

Digitized by Google

Les variations périodiques de l'eau sont inverses de celles des réserves.

On peut s'expliquer ces faits en supposant qu'il se produit dans les organes de réserve aux dépens de la végétation des composés qui attirent et retiennent l'eau avec beaucoup d'énergie. Les matières de réserve qui disparaissent en grande quantité à ce moment là peuvent être employées au moins en partie à former ces composés. L'une des substances qui contribuent à attirer l'eau dans les organes de réserve est le sucre dont les variations sont presque toujours dans le même sens que celles de l'eau. Plus tard, lorsque les réserves se constituent, les composés avides d'eau disparaissent et la proportion d'eau diminue quel que soit l'état d'humidité du sol. La proportion d'eau dépend donc de la composition chimique des organes de réserve et se trouve presque indépendante du milieu extérieur.

Selon Green (1), l'inuline du Topinambour se transforme en un sucre différent du lévulose grâce à une diastase qui n'existe qu'en faible quantité.

Que deviennent les matières minérales pendant la germination ? Belzung (2) a observé que des sulfates peuvent prendre naissance dans les plantules aux dépens des principes albuminoïdes de réserve. Les nitrates, loin de s'y développer par oxydation de l'azote organique, sont toujours empruntés au milieu ambiant ; mais certaines espèces, notamment le *Cucurbita Pepo*, le *Triticum sativum*, exercent vis-à-vis de ces sels une action absorbante très remarquable alors que d'autres, au même âge précoce et dans les mêmes conditions de milieu, sont sous ce rapport indifférents.

VII. — L'irritabilité.

La question de l'*irritabilité*, ses rapports avec la *croissance* et le *mouvement*, continuent à passionner les physiologistes. De nombreux travaux ont été effectués depuis dix ans qui serrent de plus près les faits grâce à une technique plus perfectionnée, des méthodes d'investigation qui éliminent mieux les causes d'erreur et empêchent les confusions si nombreuses en ces matières. Les résultats obtenus en Physiologie animale, surtout en ce qui concerne les Protozoaires, ont d'ailleurs exercé une influence très heureuse sur ces difficiles recherches de Biologie végétale.

Pour ce qui a trait aux *excitants chimiques*, il faut citer le travail de Massart (3) sur les Noctiluques. L'auteur déposait avec précaution, à l'aide de pipettes, des gouttes de substances différentes à la surface

(1) Green : Ann. agr. XIX, 366, et XXIII, 238.

(2) Belzung : Journal de Botanique, 1er mars 1893.

(3) Jean Massart : *Sur l'irritabilite des Noctiluques* (Bull. scient. de la France et de la Belgique, XXIII, 1893).

Digitized by Google

d'eau de mer recouverte par ces êtres phosphorescents se tenant au repos. De proche en proche, au fur et à mesure de l'élargissement de la goutte et par conséquent de la production de l'excitation nécessaire, les Noctiluques se mettaient à briller.

Le même phénomène peut être produit avec les Thalassicoles et les Bactéries lumineuses. La phosphorescence peut être supprimée par les vapeurs alcooliques.

Les narcotiques, comme la morphine, produisent, selon Demoor (2) de fortes contractions sur les dendrites des cellules nerveuses et aussi (Verworn) (3) sur les filaments pseudopodiques ramifiés des Protistes nus.

Engelmann (1) est revenu sur ses anciennes observations concernant la *chimiotaxie* des microbes. Il a constaté qu'une Diatomée dont une moitié est à l'obscurité et l'autre moitié à la lumière, est entourée de Bactéries seulement dans cette dernière, c'est-à-dire là où se fait le dégagement d'oxygène ; une cellule d'Algue à la lumière s'entoure d'une masse pressée de Bactéries, tandis qu'à l'obscurité cette masse se répartit uniformément dans la préparation.

Yennings (2) a repris de son côté les recherches sur la chimiotaxie des Paramécies étudiée en 1891, par Massart. Il a observé que l'acide carbonique exerce une chimiotaxie positive comme le font les autres acides. Comme les Paramécies produisent elles-même de l'acide carbonique, il en résulte que partout où beaucoup de ces Infusoires sont rassemblés, d'autres seront attirés fatalement, grâce à l'acide carbonique engendré. C'est, dit Verworn, la société des Paramécies devant son existence à une chimiotaxie positive.

Miyoshi (1), suivant les voies ouvertes par Pfeffer et par Strasburger sur le *chimiotropisme*, a étudié l'influence des substances diverses sur la direction des tubes mycéliens émis par les spores de Champignons en voie de germination. Ses recherches ont été faites par des procédés analogues à ceux qui avaient été employés pour l'étude du développement du boyau pollinique. On sait que cette méthode consiste à placer en chambre humide des spores sur des membranes de collodion percées de trous et flottant sur des liquides contenant des substances à étudier. On peut aussi placer les spores sur la cuticule de feuilles qui ont été injectées par ces substances. On peut enfin employer la méthode des tubes capillaires de Pfeffer.

En utilisant tous ces procédés, l'auteur a observé que les spores placées à une distance des trous égale à plus de quinze fois leur propre diamètre, émettent des tubes insensibles au chimiotropisme.

(2) Demoor : Arch. de Biol. XIV, 1896.
(3) Verworn : loc. cit.
(1) Engelmann : Verhandl. d. Kon Akad. von Wetensch. te Amsterdam ; II, section, 3e partie, 1894.
(2) Yennings : in Verworn (Physiologie générale : Paris, 1900 ; p. 483).
(1) Miyoshi : Bot. Zeit., 1894, 1er fasc.

Digitized by Google

Certaines substances sont indifférentes, d'autres attirent ou repoussent plus ou moins, la concentration joue un grand rôle. De plus, les Champignons ne se comportent pas tous de la même façon. Des sels éminemment nutritifs peuvent avoir un effet répulsif (tartrate de potassium, azotate de potassium, sulfate de magnésium) ; la glycérine est indifférente. La concentration minimum est quelquefois très faible pour certaines substances; ainsi $\frac{5}{100.000}$ d'extrait de viande attirent les hyphes de *Saprolegnia*, $\frac{1}{10.000}$ de glucose attire celles de *Mucor Mucedo*;

2 pour 100 d'extrait de viande attirent les hyphes des *Botrytis Bassiana* et *tenella*; une décoction de feuilles de Blé attire les tubes germinatifs de l'*Uredo linearis*.

L'auteur a appliqué sa méthode aux tubes polliniques.

L'oxygène est un excitant chimique et l'on sait depuis longtemps que sa présence est une dès conditions du *mouvement protoplasmique*. Si une plante verte possède encore de ces mouvements dans un milieu privé d'oxygène à la lumière, cela tient à ce que, grâce à la fonction chlorophyllienne, ce gaz apparaît par suite de la réduction de l'acide carbonique. Toutefois, chez les *Nitella*, les mouvements persisteraient d'après W. Kuhne (1), à l'obscurité et dans un milieu dépourvu d'oxygène. On peut admettre alors que la cellule des *Nitella* renferme de l'oxygène à l'état de combinaison stable comme cela semble avoir lieu pour le tissu musculaire.

Selon Herrera (2), qui a étudié la question sur des plasmas fabriqués artificiellement, les mouvements protoplasmiques seraient en rapport avec l'acide carbonique dégagé à la suite de la combustion des graisses et des sucres. Cet acide agirait mécaniquement, par simple dégagement de bulles et non chimiquement.

Les questions d'excitations produites par des substances chimiques sur les êtres vivants ont reçu, comme on sait, des applications fécondes dans le domaine de la prophylaxie des maladies microbiennes. Mais ici la réaction du corps vis-à-vis des excitants est quelque chose de fort complexe et de très controversé encore.

On a songé à opérer avec des excitants chimiques très simples et sur des êtres unicellulaires. C'est ainsi qu'on a été amené à étudier les phénomènes d'*accoutumance* aux antiseptiques. De nombreux travaux ont été effectués dans cette voie depuis ceux de Kossiakoff qui datent de 1887. Davenport et Neal (3) ont pu accoutumer des Infusoires à de faibles solutions de sublimé et leur conférer l'immunité pour des doses normalement mortelles.

(1) W. Kühne : *Ueber die Bedeutung des Sauerstoffs für die vitale Bewegung.* (7 Biol. XXXVI. 425).

(2) Herrera : Bull. Soc zool. France, XXIII, 118, 121, 128.

(3) Davenport et Neal : *Studies in Morphogenesis. V. On the acclimatization of organisms to poisonous chemical substances.* (Arch. f. Entw. II, 1896).

Digitized by Google

Passons aux *excitants mécaniques*. MASSART (1) a montré que sous l'influence des excitations intermittentes, la production de lumière chez les Noctiluques se fait d'une façon continue; c'est semblable à ce qui se passe dans le tétanos physiologique. Toutefois, au bout de peu de temps, la lumière diminue d'intensité d'une façon très notable.

Horwath et Reinke ont observé, il y a déjà longtemps, que les Bactéries sont gênées dans leur multiplication, lorsqu'on les soumet à des secousses régulières et prolongées. MELTZER (2) a confirmé ces travaux et a fait voir de plus que, dans certaines conditions, il peut y avoir mort complète et destruction granuleuse du protoplasma.

WALLER (3) montre que l'excitation mécanique engendre des courants qui peuvent atteindre $\frac{1}{10}$ de volt, cette réaction est suspendue par l'anesthésie.

Quand il y a des différences de pression en deux points d'un organisme, il se produit des phénomènes que l'on désigne du nom de *barotaxie*. Tous les cas de barotaxie se manifestant à la suite du contact plus ou moins fort de la substance vivante avec les corps solides constituent ce que l'on appelle plus particulièrement la *thigmotaxie*. C'est le thygmotropisme qui fait enrouler par exemple les tiges volubiles et les vrilles autour de leur support. Selon YENNINGS, si l'on place dans une goutte d'eau contenant des Paramécies un fragment d'une substance ruguense, on ne tarde pas à voir que ce fragment est garni d'une bordure de Paramécies y adhérant par leurs cils; on observe en outre que les cils qui sont en contact avec l'objet demeurent immobiles et que les autres se meuvent très peu. Les Paramécies fixées par thigmotaxie attirent à elles d'autres individus par chimiotaxie provoquée grâce à l'acide carbonique que dégagent ces derniers.

La fixation par thigmotactisme serait due, selon PUTTER (4) chez les Protophytes notamment à une sécrétion assurant le contact intime de l'organisme avec la surface solide. D'autre part cet auteur a montré que le thigmotactisme positif, chez les Infusoires ciliés, l'emporte souvent sur les excitations calorifiques les plus intenses.

EWART (5) a étudié l'*irritabilité de contact* chez les organes fixateurs tels que les vrilles et les crampons. Tous ceux de ces organes qui proviennent des limbes foliaires, des folioles et des stipules ainsi qu'une partie de ceux qui sont de nature tige ou racine s'épaississent, après le contact, par simple hypertrophie corticale. Chez un certain nombre d'organes fixateurs d'origine caulinaire ou radiculaire il y a en outre

(1) Massart : loc. cit.

(2) Meltzer : Zeit. f. Biol. XII, 1894.

(3) Waller : Journ. physiol., London. XXVII.

(4) Putter : *Studien ueber Thigmotaxis bei Protisten*. (Arch. Physiol. Sup. 243. 1900).

(5) Ewart : *On contact Irritability*. (Ann. Jard. Buitenzorg, XV, 187).

Digitized by Google

prolifération cambiale. Dans le premier cas, la courbure ne peut avoir lieu que si la région de contact a conservé sa turgescence; dans le second, il paraît probable que le stimulus de contact agit comme stimulus d'activité cambiale cheminant au travers des tissus interposés. Les blessures engendrent un stimulus analogue.

Mac Dougal (1) distingue dans l'enroulement des vrilles deux phénomènes : 1° un enroulement dû à la circumnutation et ne s'observant que chez les vrilles adultes; 2° une courbure due à un tactisme particulier et pouvant se produire chez les vrilles jeunes. La zone sensible au premier phénomène se trouve non loin de la base; celle qui est sensible au second est presque au sommet.

Haberlandt (2) a constaté que l'irritabilité de contact varie beaucoup avec le milieu; ainsi chez le *Biophytum sensitivum*, elle est beaucoup plus marquée à Java que dans les serres européennes. Il a observé en outre que les traumatismes peuvent engendrer des sortes d'irritation à répétition, les folioles s'abaissant et se relevant alternativement un certain nombre de fois d'elles-mêmes, après la blessure. Enfin, l'irritation due à une blessure se propage bien plus loin que si elle était due à un simple choc. La transmission de l'excitation semble se faire par les communications protoplasmiques des faisceaux vasculaires.

Bonnier (3) a cultivé des Sensitives dans l'eau, soit à partir de la graine, soit à partir d'un certain état de développement. Dans ces conditions anormales, l'irritabilité n'a pas disparu; elle est seulement amoindrie.

Si l'on étudie anatomiquement ces Sensitives ayant vécu dans l'eau, on ne constate de différence vraiment importante que dans les fibres et les vaisseaux, surtout au niveau du renflement moteur; comme l'expérience prouve que les modifications de l'irritabilité sont liées à des modifications dans la structure, il en résulte que ce sont bien les fibres et les vaisseaux qui jouent le rôle essentiel dans les mouvements de la Sensitive.

Chauveaud (4) montre que le rôle attribué à la sortie de l'eau dans les mouvements provoqués des étamines de l'Epine-Vinette n'existe pas. En effet, une étamine coupée, qui, par conséquent, ne peut plus recevoir d'eau, peut néanmoins se courber un grand nombre de fois.

Or l'étamine possède en dedans du faisceau, un tissu spécial formé de cellules étroites, allongées, serrées les unes contre les autres, mais laissant entre elles, à leur sommet, de petits méats. Les parois trans-

(1) Mac Dougal : Ber. d. deut. bot. Gesell., XIV, 151.

(2) Haberlandt : *Ueber die Reizbewegungen und die Reizfortpflanzung bei* Biophytum sensitivum. (Ann. Jard. Buitenzorg. Sup. 33).

(3) G. Bonnier : *Mouvements de la Sensitive développée dans l'eau.* (CR. CXXVI, 1001).

(4) Chauveaud : *Mécanisme des mouvements provoqués du* Berberis (CR. CXIX, 103).

Digitized by Google

versales de ces cellules sont minces ; les parois longitudinales sont épaisses mais demeurent cellulosiques et présentent de nombreux amincissements. Ceux-ci facilitent les échanges de cellule à cellule et sont très favorables à la flexion en longueur.

Ce *tissu élastique* est revêtu d'une assise qui continue l'épiderme sur la face interne et sur les faces latérales du filet. Mais les cellules de cette assise sont arrondies par leur face libre qui est mince, tandis que leur paroi profonde est très épaisse.

Cette *assise* qui est véritablement *motrice*, surtout dans sa partie moyenne, a un plasma qui, à l'état de repos, est condensé en bande épaisse sur le fond des cellules. Par suite d'une irritation mécanique ou chimique, la bande se détend subitement, se courbe en arc et, tandis que ses bords tirent sur les parois transversales, son milieu convexe presse contre la paroi externe qui se bombe encore davantage de sorte que la cellule se raccourcit et augmente d'épaisseur. Toute la lame motrice se contractant, comme elle est du côté interne de l'étamine, celle-ci se courbe en dedans, ramenant l'anthère sur le stigmate. Le changement de volume produit est faible par suite de l'existence du tissu méatique sous-jacent.

Correns (1) a donné une contribution fort intéressante à la physiologie du *Drosera*.

On sait que Darwin a constaté que des *Drosera*, mis dans de l'eau à 50°, rabattent leurs tentacules. Correns montre que ce phénomène n'est pas dû à la chaleur mais bien à l'action excitante de l'eau. La chaleur ne fait que rendre plus manifeste l'irritabilité de la plante.

Mais les sels de calcium de l'eau ont un pouvoir inhibiteur. Ils se comportent de même lorsqu'on les mélange aux sels d'ammonium, qui sont pourtant très actifs, en proportion convenable (5 à 10 fois plus de sels de calcium que de sels d'ammonium).

L'auteur pense que cette curieuse propriété explique pourquoi les *Drosera* sont des plantes calcifuges.

Wuillemin fait observer à ce sujet (Année biologique, 1896, p. 393), que la conclusion de Correns ne peut être justifiée que si l'on établit que le calcium est réellement absorbé par les feuilles et par les racines et que la paralysie motrice est le résultat de cette absorption. L'acide acétique, en effet, provoque les mouvements des tentacules ; or ces tentacules excrètent un suc acide qui jouit des mêmes propriétés. Peut-être ce suc, délayé dans l'eau distillée, vient-il agir sur les parties excitables des tentacules ; s'il en était ainsi on comprendrait que les sels du calcium, neutralisant l'excitant, pussent empêcher la réaction.

La *conductibilité* des excitations varie beaucoup chez les êtres vivants. Elle est très développée chez les nerfs, elle l'est moins chez les muscles, surtout chez les muscles lisses. Chez les pseudopodes

(1) Correns : Bot. Zeit., LIV, 21.

Digitized by Google

filiformes de certains Rhizopodes, elle est particulièrement faible ; VERWORN (1) a montré que chez *Orbitolites* elle était à peine appréciable, la réaction étant du reste très localisée.

Etudions maintenant les réactions aux *excitations électriques*. Verworn a montré autrefois, après les études de Kühne sur un *Actinophærium*, qu'il y a contraction à l'anode et à la cathode lors de la fermeture du courant constant et à la cathode seulement au moment de l'ouverture du courant. Beaucoup de Rhizopodes marins se comportent de même (*Orbitolites*, *Amphistegina*) (2). LŒB (3) a vu que chez l'*Amblystoma*, qui est un Batracien urodèle d'Amérique, les glandes cutanées sont excitées à l'anode par la fermeture du courant. Il a constaté avec le *Pelomyxa* que l'irritabilité de la substance vivante s'affaiblit par l'action prolongée d'un excitant.

Selon VERWORN (4), l'*Amœba proteus* dont les pseudopodes sont étalés dans différentes directions à l'état normal prend une forme allongée qui est celle de l'*Amœba limax*. LUDLOFF (5) a constaté des faits analogues avec des Paramécies. Pour ces deux types de Protozoaires, la fermeture du courant produit aux deux pôles des effets d'excitation opposés, une contraction à l'anode, une expansion à la cathode.

Il y a des formes de substance vivante qui, selon VERWORN, ne sont pas influencées par les chocs d'induction soit isolés, soit en succession lente ou rapide. C'est ce qui arrive avec un certain nombre de Rhizopodes marins comme par exemple *Orbitolites* et *Amphistegina*. Le protoplasma de ces êtres exige donc une durée d'excitation plus longue que celle qui est donnée par le choc d'induction.

Si l'on fait passer un courant constant dans la cupule d'un porte-objet contenant un grand nombre de Paramécies, on voit, au moment de la fermeture, toutes les Paramécies présenter du *galvanotactisme* positif et se diriger vers la cathode. Si l'on renverse le courant, ces organismes se dirigent vers l'ancienne anode. Les Paramécies rassemblées à un pôle se dispersent quand on ouvre le courant. La plupart des Infusoires ciliés possèdent comme les Paramécies une galvanotaxie cathodique. Mais beaucoup de Flagellates se comportent d'une façon inverse.

On assiste, dit Verworn, à un spectacle très curieux quand on fait passer un courant dans un liquide où se trouvent mélangés des Infusoires à galvanotaxie anodique et à galvanotaxie cathodique. On voit, à la fermeture du courant, les espèces qui jusque là fourmillaient dans tous les sens, se séparer et se diriger les uns, les Ciliés, du côté de la

(1) Werworn : Sitz. d. Kgl. preuss. Akad. d. Wiss. zu Berlin, 1896, XLVI.
(2) Verworn : Pflüger's Archiv. LXII, 1896.
(3) Lœb : Pflüger's Archiv. LXV, 1896.
(4) Verworn : Loc. cit.
(5) Ludloff : Pflüger's Arch. LIX. 1895.

Digitized by Google

cathode, les autres, les Flagellés, du côté de l'anode. « Si l'on renverse le courant, ces organismes se jettent les uns sur les autres, comme deux armées ennemies, s'entrecroisent et se rassemblent de nouveau aux pôles opposés. Il y a peu d'expériences physiologiques qui soient aussi élégantes que cette danse galvanotactique des Infusoires. »

Chez le *Spirostomum ambiguum*, Infusoire cilié vermiforme de deux millimètres de long, la fermeture du courant produit des contractions qui aboutissent à ce que l'individu excité se place perpendiculairement à la direction du courant et se maintient dans cette situation. C'est du *galvanotactisme transversal*.

H. Dale (1) a constaté que le galvanotactisme chez les Infusoires marche parallèlement avec le chimiotactisme quand les organismes sont placés dans des solutions d'électrolytes; en effet, l'attraction des Infusoires vers l'anode correspond toujours à une attraction vers le tube capillaire qui contient l'acide chlorhydrique, tandis que l'attraction vers la cathode correspond à une attraction vers le tube capillaire qui contient la soude, si l'électrolyte est du sel marin; dans ce cas, les Infusoires recherchent où fuient les substances mises en liberté par le courant électrique. Mais dans l'eau à peu près pure, le parallélisme précédent n'existe plus Le galvanotactisme n'est pas du chimiotactisme, mais il ne serait pas non plus un simple transport par le courant; ce serait plutôt du rhéotropisme vis-à-vis du courant d'eau cataphorique.

Selon Mouton (2), l'orientation galvanotropique des Paramécies est due à une action directe du courant et non à une action secondaire de nature chimique.

En soumettant des cultures à l'action des ondes électriques de Hertz, Hegler (3) a constaté que des hyphes dressées de *Phycomyces* se courbent dans le sens de la propagation des ondes; les courbures dues à ce galvanotropisme négatif sont moins fortes que celles qui sont engendrées par l'héliotropisme.

Stone (4) a constaté l'influence de l'électricité sur la germination et sur la croissance. Il a constaté également, comme les auteurs précédents, un minimum, un maximum et un optimum d'excitation. De plus, il a trouvé que la plante ne répond pas immédiatement à l'excitation; il y a une période d'excitation latente de 35 minutes environ comme pour le géotropisme ou l'héliotropisme. Les courants alternatifs sont plus efficaces que les courants constants. Enfin le rapport entre la perception et l'excitation suit la loi de Weber.

G. Lopriore, en soumettant les cellules du *Vallisneria spiralis* à

(1) Dale : *Galvanotaxis and Chemotaxis of ciliate Infusoria* (Journ. Physiol. London, XXVI, 291).

(2) Mouton : *Sur le galvanotropisme des Infusoires ciliés*. (CR. CXXVIII, 1247, 1899).

(3) Hegler : Bot. Central, LV, 40.

(4) Stone : The influence of electricity upon plants. (Bot. Gaz. XXVII, 123, 1899).

Digitized by Google

l'action des rayons X, a trouvé qu'au bout d'une demi-heure les courants protoplasmiques sont accélérés sans que la vitalité des cellules elles-mêmes soit compromise. Après deux heures d'exposition les courants existent encore, mais le plasma et surtout les chloroleucites sont altérés.

La *chaleur* provoque aussi des mouvements et ces derniers sont très énergiques à des températures déjà assez élevées (Engelmann, Kühne). Max Schulze et Naegeli l'ont constaté dans le mouvement protoplasmique des cellules de *Tradescantia* et de *Chara*; à 45°, selon Kühne, il se produit de violents phénomènes de contraction analogues à ceux que provoquent des courants d'induction. Verworn (1) a montré que les deux phases du mouvement, celle d'expansion et celle de contraction, ne sont pas influencées dans la même mesure par la chaleur.

En produisant dans un milieu contenant des Paramécies des différences de température, Mendelssohn (2) a vu que pour des températures de 24 à 28 degrés les Paramécies présentent une *thermotaxie* négative; ils sont au contraire attirés à des températures inférieures. Selon Jensen, les Paramécies sont sensibles au point de vue thermotactique à des différences de $\frac{1}{100}$ de degré aux deux extrémités de leur corps long de $\frac{2}{10}$ de millimètre. Rappelons à ce sujet que d'après Pfeffer, les anthérozoïdes de Fougères sont sensibles au point de vue chimiotactique à une solution contenant $\frac{1}{100.000}$ d'acide malique, laquelle doit manifester son action sur un organisme de $\frac{15}{1000}$ de millimètre de long en produisant aux deux extrémités des différences de concentration qui, on le voit, doivent être infimes.

On se rappelle le curieux résultat obtenu autrefois par Elving (3) sur l'irritabilité des hyphes fructifères du *Phycomyces nitens*. Ces hyphes, en effet, se courbent du côté d'une masse de fer suspendue dans leur voisinage à quelques centimètres de distance. Le zinc, l'aluminium surtout provoquent le même phénomène mais à un degré beaucoup moindre.

Errera a considéré ce phénomène singulier comme une manifestation de l'hydrotropisme négatif, car les hyphes toujours plus ou moins humides se repoussent et d'autre part le fer absorbe la vapeur d'eau et dessèche l'air ambiant.

Mais Elfving a trouvé que des corps plus desséchants que le fer, tels

(1) Verworn : *Loc. cit.*

(2) Mendelssohn : *Ueber den Thermotropismus einzelliger Organismen.* (Pflüger's Archiv. LX. 1895).

(3) Elving : Œfversigt of Finska Vet. Soc. Fœrhandlingar. XXXVI.

Digitized by Google

qu'une baguette de potasse caustique, un cylindre de plâtre imbibé d'une solution de chlorure de calcium ne produisent aucun effet.

Le même auteur a trouvé que du platine ou de l'acier très finement poli n'agissent bien que s'ils ont été exposés longtemps à la lumière solaire; de plus la chaleur n'est pour rien dans ce phénomène; les rayons ultra-violets n'ont pas davantage d'action.

Möbius (1) a étudié longuement les phénomènes d'irritabilité chez les végétaux aquatiques. Il a constaté que la *lumière* est indispensable à la production abondante des racines (*Elodea*, *Myriophyllum*). Or on sait, depuis les travaux de Sachs et d'autres physiologistes que c'est l'inverse qui a lieu avec les plantes terrestres. Möbius voit dans ces faits la mise en jeu d'une irritabilité qui est variable selon les types biologiques.

A l'obscurité, il y a croissance rapide par hypertrophie cellulaire. De plus, chez les tiges coupées de *Ceratophyllum demersum* placées à l'abri de la lumière il se produit des courbures dans les rameaux et aussi dans les feuilles à leur point d'insertion.

De nombreux expérimentateurs se sont demandé quel est le véritable sens de la *réaction héliotropique*. Les uns, comme Strasburger et Lœb, pensent qu'il s'agit d'une sensibilité spéciale à la direction des rayons lumineux; les autres, comme Oltmanns et Verworn, admettent que la réaction est due à une sensibilité aux différences d'intensité lumineuse dans les diverses régions du champ.

Davenport et Cannon (2), étudiant l'action de la lumière sur les Daphnies, ont été conduits à distinguer le *phototactisme* ou sensibilité à la direction de la lumière et la *photopathie* ou simplement sensibilité à la lumière.

I. Lœb (3) considère que le phototactisme produit un mouvement d'orientation sans croissance, tandis que le phototropisme correspond à une différence de croissance sur deux côtés opposés d'une partie d'un végétal.

Wiesner (4) a essayé de déterminer photométriquement les constantes héliotropiques. L'héliotropisme est provoqué par les rayons qui agissent sur le chlorure d'argent. Les rayons jaunes n'ont aucune action sur lui. Un millionième d'unité de Bunsen-Roscoe suffit pour faire apparaître une courbure dans une tige étiolée de Vesce. On sait que la méthode Bunsen-Roscoe consiste à déterminer l'intensité de la lumière à l'aide du papier photographique normal.

La loi de l'optimum se vérifie pour l'héliotropisme comme pour

(1) Möbius : *Ueber einige an Wasserpflanzen beobachteten Reizercheinungen* (Biol. Central., XV. 1).

(2) Davenport et Cannon : Journ. Physiol., London, XXI, 22.

(3) I. Lœb : Arch. gesam. Physiol., LXVI, 439.

(4) Wiesner : Bot. Centralb., LXIX, 306.

Digitized by Google

les autres phénomènes physiologiques. En opérant sur des filaments sporangifères de *Phycomyces*, sur des germinations d'Orge, OLTMANNS (1) a vu que l'héliotropisme est positif ou négatif suivant la distance de la plante à la source lumineuse ; quand la lumière est trop forte, en effet, c'est le côté opposé qui est le plus voisin de l'optimum et qui se courbe.

On doit à FIGDOR (2) des recherches analogues à celles qui viennent d'être rapportées. L'auteur s'est servi d'une veilleuse qui équivalait, à la distance de 50 cm., à 0,064 bougie normale. A la distance de 7 mètres de la source, des plantules de *Lepidium sativum*, d'*Amaranthus melancholicus ruber*, de *Papaver pæoniflorum*, de *Lunaria biennis*, se sont encore courbées ; il en résulte que ces plantules sont sensibles à une lumière dont l'intensité n'est que de $\frac{3}{10.000}$ de bougie. La Vesce serait beaucoup moins sensible ; elle ne réagit plus à la distance de 3 mètres. D'une manière générale, les plantes habituées à vivre en plein soleil seraient moins héliotropiques que les autres.

On doit à WIESNER (3) de très intéressantes études sur l'adaptation des feuilles et des fleurs aux différentes intensités lumineuses.

La plupart des feuilles sont *photométriques*, c'est-à-dire prennent des positions déterminées par la lumière, soit pour mieux recevoir celle-ci, soit pour l'éviter. Toutefois un certain nombre de feuilles, celles du Pin par exemple, sont *aphotométriques*, c'est-à-dire ne s'orientent pas sous l'influence de la lumière ; ces feuilles sont cependant un peu héliotropiques ; elles dériveraient alors de la même souche que les autres. Ces dernières peuvent être à leur tour réparties en deux groupes ; en effet, elles peuvent s'orienter de façon à recevoir le maximum de lumière diffuse ; on les dit alors *euphotométriques* ; ou bien elles utilisent au mieux et la lumière directe et la lumière diffuse ; on les dit alors *panphotométriques*. Le passage d'un de ces deux derniers types à l'autre peut se faire dans une feuille donnée grâce à des variations dans l'intensité lumineuse.

Les fleurs sont aussi photométriques ou aphotométriques (*Ipomœa purpurea*). Les inflorescences phototropiques peuvent être considérées comme résultant d'une adaptation à un éclairage unilatéral, tandis que celles qui sont aphototropiques résulteraient d'une adaptation à un éclairage diffus. En outre aucune plante ne suit réellement le cours du soleil comme on l'enseigne souvent.

L'adaptation à la *vie rampante* se fait par un retour à l'état végétatif et une atténuation de la fécondité. Ce sont là des caractères que

(1) Oltmann : Flora, LXXXIII, 1.

(2) Figdor : Sitzung. d. Kais. Akad. de Wiss. 3. Wien, CII, 1893, 45.

(3) Wiesner : *Ueber die Formen der Anpassung des Laubblattes an die Lichtstärke*. (Biol. Centralb. XIX, 1, 1899).

Digitized by Google

produit l'action de la *lumière diffuse*. Stahl. Pick, Dufour. Kerner von Marilaun, Vöchting ont bien montré l'influence de la lumière sur les organes végétatifs des plantes. MAIGE (1) a fait voir que la lumière diffuse peut produire chez l'*Ampelopsis hederacea* et le *Glechoma hederacea* la transformation de bourgeons florifères dressés en bourgeons grimpants ou rampants, tandis que la lumière directe peut dans certaines limites favoriser la transformation inverse. Ces recherches concordent avec celles de Rostafinski et Woronin, de Klebs sur les organes reproducteurs des Algues, de CURTEL (2) sur la fleur des plantes supérieures,

Maige a abordé en outre la question des causes de la reptation. Frank, De Vries, Wiesner attribuent l'horizontalité des rameaux rampants à l'*héliotropisme négatif*. Toutefois Frank a émis l'opinion que le *Fragaria lucida*, qui reste horizontal aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière et qui reprend cette position si on vient à l'en écarter, est doué de *géotropisme transversal*.

CZAPECK (3) considère, lui aussi, que le géotropisme transversal est bien la cause de la reptation. En éclairant par dessus des rameaux rampants de *Rubus* et de *Fragaria* placés dans une caisse noire, il n'a constaté aucune manifestation de l'héliotropisme négatif. En plaçant d'ailleurs des rameaux de *Lysimachia Nummularia* et de *Fragaria* sur un clinostat et en les éclairant latéralement, il a constaté que les rameaux possédaient plutôt un héliotropisme positif. Quant au redressement de certains rameaux rampants à l'obscurité, il serait attribuable à une variation du géotropisme.

Cette opinion sur la cause de la reptation concorde bien avec les idées de Dutrochet, Hofmeister, Elfving, Gœbel, Stahl sur la direction des rhizomes.

Mais la lumière peut transformer le géotropisme transversal en un géotropisme plus voisin du géotropisme positif (Stahl ; BRIQUET (4)). L'obscurité produit aussi, selon Czapeck, une variation de la sensibilité géotropique dans les rameaux rampants et le retour à un géotropisme plus voisin du géotropisme négatif ; d'où le redressement à l'obscurité des rameaux d'un certain nombre de plantes rampantes ; mais ce fait n'est pas général (*Potentilla reptans*, *Glechoma hederacea*, *Linaria Cymbalaria*).

Ainsi chez les diverses plantes rampantes, l'irritabilité géotropique serait influencée ou non par la lumière. Le même auteur avait autrefois

(1) A Maige : *Recherches biologiques sur les plantes rampantes* (Ann. sc. nat. Bot, 8e série, XI, 249. Thèse de doctorat, Paris, 1900).

(2) Curtel : *Recherches physiologiques sur la fleur*. Thèse de Doctorat, Paris, 1899.

(3) Czapeck : *Ueber die Richtungursachen der Seitenwurzeln und einiger plagiotroper Pflanzentheile* (Sitz. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, 1895).

(4) Briquet : Arch. sc. phys. nat. Genève. 4e période, 54.

Digitized by Google

admis que les rameaux horizontaux hypogés et épigés renfermaient en outre du géotropisme transversal, mais à l'état latent, les premiers, du géotropisme positif et les seconds du géotropisme négatif. Ces géotrotropismes latents auraient pu se manifester sous l'influence de la lumière ou de l'obscurité.

(*A suivre*). ED. GRIFFON.

450 — Lille, imp. LE BIGOT FRÈRES. Le Gérant, Th. CLERQUIN.

Digitized by Google

LE TÉMOIGNAGE HISTORIQUE

DES PLANTES HALOPHILES

DANS LA RÉGION DU MARQUENTERRE

par M. Marin MOLLIARD

La répartition actuelle des végétaux dans une région donnée est évidemment la résultante des modifications apportées peu à peu aux flores antérieurement existantes par des changements dans les conditions ambiantes ; mais il est le plus souvent très difficile de préciser ces modifications successives et j'estime qu'il n'est pas sans intérêt de relater, chaque fois qu'on peut le saisir, le rapport qui existe entre la flore actuelle et des modifications d'ordre géographique constatées historiquement ; c'est ce que j'ai pu établir pour la flore d'un espace très restreint situé sur la commune de Berck-sur-Mer (Pas-de-Calais).

Toute la région comprise entre le village de Berck et celui de Groffliers est formée par un cordon de dunes littorales, en arrière duquel se trouve une étendue de terrain absolument plane, constituée par des prairies qu'on désigne dans le pays sous le nom de « molières » ; la flore de ces pâturages n'a pas de caractères bien spéciaux ; on y trouve des plantes à aire de dispersion très étendue telles que de nombreuses Graminées de prairies de la flore parisienne et, pour n'en citer que quelques autres :

Ranunculus bulbosus L.,
Trifolium repens L.,
Trifolium fragiferum L.,
Thrincia hirta Roth.,
Leontodon autumnalis L.,
Bellis perennis L.,
Plantago lanceolata L.

ainsi que quelques plantes particulières au littoral de la région, telles que *Carex arenaria* L., *Carex trinervis* Desgl.

De place en place se trouvent des mares dont quelques-unes

Digitized by Google

sont assez profondes et qui paraissent toutes avoir été creusées par la main de l'homme, afin que les bestiaux puissent trouver sur place l'eau qui leur est nécessaire ; il suffit de jeter un coup d'œil sur les végétaux qui y croissent :

Ranunculus aquatilis (L.) Godr. *Veronica Anagallis* L.,
Myriophyllum spicatum L., *Alisma Plantago* L.

pour reconnaître que l'eau qu'elles contiennent est de l'eau douce; c'est dans la plus grande de ces mares, celle qui se trouve au pied des dunes littorales, que j'ai récemment signalé (1) l'existence de l'*Elodea canadensis* Rich., qui passait jusqu'ici pour manquer dans le Pas-de-Calais sur le versant de la Manche.

La route qui mène de Berck-Ville à Groffliers longe ces molières qu'elle laisse à droite, la zone de terrains qui est située à gauche de cette route étant cultivée ; à la hauteur de la borne kilométrique 52 on aperçoit, au milieu des prairies, une série de mares rapprochées les unes des autres et dont l'aspect général est tout-à-fait différent de celui que présentent celles dont nous venons de parler ; elles s'étendent sur une superficie d'environ un are : leur contour est irrégulier, déchiqueté ; elles communiquent entre elles, lorsqu'elles sont remplies d'eau, par des sortes de canaux assez étroits ; pour caractériser d'un mot leur configuration, disons qu'elles rappellent absolument celles qui existent dans les estuaires de la région, à l'embouchure de la Canche et à celle de l'Authie.

La flore terrestre et aquatique de cette étendue restreinte de terrain détone au milieu de celle des molières ; alors que cette dernière ne présente à aucun degré les caractères d'une flore saumâtre, nous sommes ici en présence d'une flore halophile, bien qu'on se trouve à 3 kilom. environ de la mer ; dans les plus grandes mares, celles qui se trouvent au milieu de cette région, il n'existe qu'une Phanérogame, le *Potamogeton pectinatus* L. ; on y trouve comme Algues de nombreux *Oscillaria* et l'*Enteromorpha intestinalis* (L.) Link. sous ses différents aspects, tantôt filiforme, tantôt très large et vésiculeux.

Dans le fond des mares qui s'assèchent de bonne heure ou sur les bords des plus grandes qui ne s'assèchent que partiellement

(1) Molliard : *Sur l'extension de deux plantes*, Matricaria discoidea *D. C. et* Elodea canadensis Rich., dans le Nord de la France (Bull. Soc. Bot. Fr., 1903).

Digitized by Google

pendant l'été on n'observe guère que des plantes d'eau saumâtre ; ce sont :

Salicornia herbacea L.,	*Triglochin maritimum* L.,
Suæda maritima Dumort.,	*Glyceria maritima* Mert. et Koch,
Spergularia rubra Pers.,	*Glyceria distans* Whlbg.

Il peut se trouver exceptionnellement au milieu d'elles quelques plantes telles que *Carex vulpina* L., qu'on connaît pour ne pas être des halophiles nécessaires.

Les individus de *Salicornia herbacea* méritent une mention particulière; leur aspect général est tout différent de celui qu'on connaît pour cette plante lorsqu'elle se développe dans les estuaires de la Canche ou de l'Authie ; qu'on s'adresse à l'une quelconque des deux variétés *S. Emerici* ou *S. patula* que Duval Jouve (1) a distinguées dans l'espèce linnéenne, qu'on trouve côte à côte, intimement mélangées, par exemple dans la baie d'Authie, et qui présentent l'une vers l'autre de telles transitions qu'il est difficile de dire exactement pour certains individus à quelle variété ils doivent être rapportés, les plantes des stations ordinaires sont dressées, au moins en ce qui concerne la tige principale, et sont d'un vert sombre dans leurs parties jeunes ; autour des mares que nous avons en vue les échantillons de *Salicornia* sont absolument couchés, rampants ; la tige principale, comme les rameaux, sont étroitement appliqués contre le sol ; les tiges sont de plus colorées en rouge par un pigment qui apparaît sur les plus jeunes articles ; ceux-ci sont plus courts, relativement plus renflés que dans les individus vivant dans des conditions normales et la plante n'atteint qu'un développement bien moindre. Au point de vue anatomique la différence essentielle consiste en un développement beaucoup plus considérable du sclérenchyme du cylindre central dans ces échantillons d'allure aberrante.

On peut faire des remarques analogues sur le *Suæda maritima* dont beaucoup d'échantillons sont couchés et qui deviennent aussi rapidement rouges, bien que ces caractères d'adaptation soient moins frappants que pour l'espèce précédente.

On passe par des transitions insensibles de cette flore nettement

(1) Duval Jouve : *Les* Salicornia *de l'Hérault. Observations anatomiques et morphologiques* (Bull. Soc. Bot. Fr., 1868, T. XV).

Digitized by Google

saumâtre à celle des molières ; nous pouvons, en dehors de la première zone de végétation dont nous venons de donner les caractères principaux, en distinguer deux autres ; les plantes caractéristiques de la zone moyenne sont les unes des halophiles, les autres des plantes d'endroits humides non salés ; ce sont :

Glaux maritima L.,
Triglochin maritimum L.,
Glyceria maritima Mert. et Koch.,
Lepturus filiformis Trin.,
Juncus bufonius L.,
Scirpus maritimus L.,
Alopecurus geniculatus L.,
Agropyrum repens L.

La zone la plus externe comprend encore quelques-unes des plantes précédentes, par exemple *Glaux maritima*, et surtout les plantes qui se retrouvent dans l'ensemble des molières :

Ranunculus bulbosus L.,
Draba verna L.,
Cerastium vulgatum L.,
Radiola linoides Gmel.,
Trifolium repens L.,
Trifolium fragiferum L.,
Trifolium filiforme L.,
Erythræa Centaurium Pers.,
Thrincia hirta Roth.,
Plantago Coronopus L.,
Poa pratensis L.,
Festuca ovina L.

Sur le côté droit de la route de Berck à Groffliers, et la longeant immédiatement se trouve un fossé communiquant avec la rivière de la Petite Arche ; les eaux de ce fossé passent dans la saison des pluies sous la route où un pont a été ménagé ; dans les eaux de ce fossé on retrouve des *Enteromorpha intestinalis* et sur le bord quelques plantes maritimes telles que *Glaux maritima* L. en même temps que de nombreuses plantes d'endroits non salés, *Alisma Plantago* L., *Scirpus lacustris* L., *Sc. maritimus* L., *Senecio Jacobæa* L., *S. aquaticus* Huds., *Geranium dissectum* L., etc...; si nous suivons ce petit affluent de la Petite Arche nous observons que les caractères d'une flore saumâtre disparaissent peu à peu pour ne plus se retrouver dans la Petite Arche elle-même.

Nul doute à priori que nous nous trouvions en présence de mares d'eau saumâtre ; l'analyse chimique vient nous confirmer dans cette idée mais nous donne en plus des renseignements intéressants sur le degré de salure des eaux de cette région limitée. Au mois d'avril 1903, alors que les mares étaient absolument remplies d'eau, on décélait 0 gr. 18 °/₀ de chlorure de sodium ; à la fin de

Digitized by Google

septembre de la même année, après une saison très pluvieuse, on retrouvait à peu près la même quantité de sel, soit 0,20 °/₀ ; mais à la fin de juillet 1903, alors que les plus petites mares étaient complètement asséchées, la petite quantité d'eau qui restait dans les plus grandes contenait 3,20 °/₀ de sel marin, c'est-à-dire presque autant que l'eau de mer ; remarquons que le volume de l'eau avait diminué très sensiblement dans le rapport inverse de l'augmentation de la teneur en chlorure de sodium.

A la fin de juillet, alors que la salure était de 3,20 °/₀, j'ai observé sur le bord de la mare de nombreux cadavres d'Épinoche *(Gasterosteus aculeatus)* ; d'autres individus de la même espèce étaient encore vivants dans cette eau, mais ce qui est à remarquer c'est qu'aucun des jeunes poissons de cette espèce n'avait péri ; quelle que soit la cause de la mort de ces animaux il apparaissait très nettement que les adultes étaient le moins résistants. Il est naturel d'admettre que nous nous trouvons en présence de l'action d'une salure trop intense et qu'avec la teneur de 3,2 °/₀ nous atteignons la dose fatale ; mais on sait par les recherches de M. Giard (1) que l'Épinoche peut passer directement de l'eau douce à l'eau de mer et inversement, en s'adaptant de suite au nouveau milieu, et peut vivre plusieurs semaines dans l'eau de mer ; nos observations tendent à montrer que ces poissons ne résistent pas indéfiniment à l'action de l'eau salée ; il peut du reste intervenir d'autres conditions défavorables à leur existence dans les mares où nous les avons observés ; l'eau en était très chaude au milieu de la journée et de plus était contaminée par de nombreuses bactéries.

L'analyse chimique de l'eau du fossé qui rejoint la Petite Arche et où on observe des *Enteromorpha intestinalis*, effectuée au mois de juillet 1903, n'a donné qu'une teneur de 0,42 °/₀ en chlorure de sodium ; à la même époque les eaux de la Petite Arche ne contenaient que 0,005 °/₀ environ de sel et les différentes mares des molières ou des environs de Berck présentaient une proportion de sel variant entre 0,01 et 0,03 °/₀. D'autre part les eaux qui se trouvent dans les mares autour desquelles foisonnent dans la baie d'Authie *Salicornia herbacea* et *Suæda maritima* contiennent, à marée basse, de 1 à 2 °/₀ de chlorure de sodium.

(1) Voir à ce propos les deux Notes récentes de M. Siedlecki (C. R. Acad. Sc 1903. T. CXXXVII, p. 469 et p. 525).

Digitized by Google

Les Salicornes ont donc à leur disposition, pendant la saison sèche, une quantité de sel aussi considérable que dans la baie d'Authie, mais elles se développent sur un sol beaucoup plus sec et il me semble bien que c'est à cette sécheresse qu'il faut surtout rapporter l'aspect très particulier de cette plante autour des mares salées des molières ; ce qui le montre bien c'est que quelques échantillons qui se développent tout près de l'eau se rapprochent beaucoup plus par l'ensemble de leurs caractères de la plante vivant dans les conditions normales ; le géotropisme a dû être modifié par la faible intensité d'absorption.

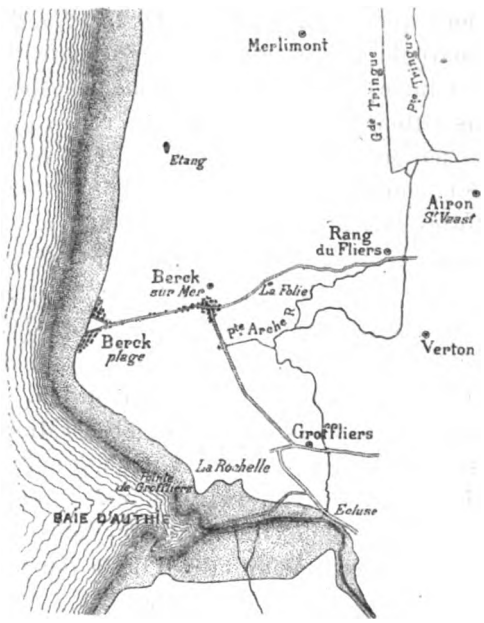


Fig. 47. — Environs de Berck en 1831 et actuellement, d'après la Carte de l'État-Major (+ emplacement des mares saumâtres actuelles).

Nous devons maintenant nous demander quelle est l'origine du sel se trouvant ainsi très localisé ; il ne peut évidemment s'agir d'une infiltration de l'eau de la mer ; si elle existait on en retrouverait la trace au moins de place en place dans ce terrain absolument plat ; la configuration de l'ensemble des mares nous a fait penser de suite que nous devions nous trouver en présence des restes d'un ancien estuaire et j'ai été amené à rechercher sur les cartes anciennes les variations locales du rivage.

La carte de l'État-Major (1831) et la carte marine de 1835 montrent qu'à cette époque la côte comprise entre la baie de la Canche et la partie Sud de la Plage actuelle de Berck était, comme aujourd'hui, très sensiblement rectiligne ; il n'existe qu'une légère concavité, de diamètre très faible, à l'extrémité de la route qui conduit de Berck-Ville (l'ancien Berck-sur-Mer) à Berck-Plage, au lieu dit

Digitized by Google

« l'Entonnoir ». La Petite Arche reçoit les eaux d'une mare située à Airon-Saint-Vaast et les conduit à la rivière de l'Authie en passant par Groffliers ; avant de se jeter dans l'Authie cette petite rivière traverse une digue et en ce point existe une écluse qui a pour double but d'empêcher les eaux de la mer de remonter dans la Petite Arche et de maintenir assez élevé le niveau de ce ruisseau. Nous avons en reproduisant la carte de cette époque (fig. 47) marqué d'une croix (+) l'emplacement des mares qui nous occupent.

Si nous passons à l'examen de la carte de Cassini (1750-60) ou de celle des « Côtes de Picardie » levée par La Bretonnière et Méchain (1776) nous constatons (fig. 48) que la côte est très concave à la hauteur de Berck ; dans le fond de cette concavité est figuré le *Roïon*, digue en dedans de laquelle se trouvait très vraisemblablement un fossé rempli d'eau. Nous retrouvons la Petite Arche qui est indiquée comme canalisée depuis le Rang-du-Fliers jusqu'à l'écluse de Groffliers ; entre Berck-sur-Mer et Groffliers se trouve figuré un grand étang « *le Coin du Cu* » communiquant par un ruisseau avec la Petite Arche qui s'appelle alors Rivière d'Airon ; l'emplacement de cet étang coïncide avec celui de la région qui nous occupe et selon toute vraisemblance les mares dont nous avons signalé les caractères de la flore n'en sont qu'un faible reste.

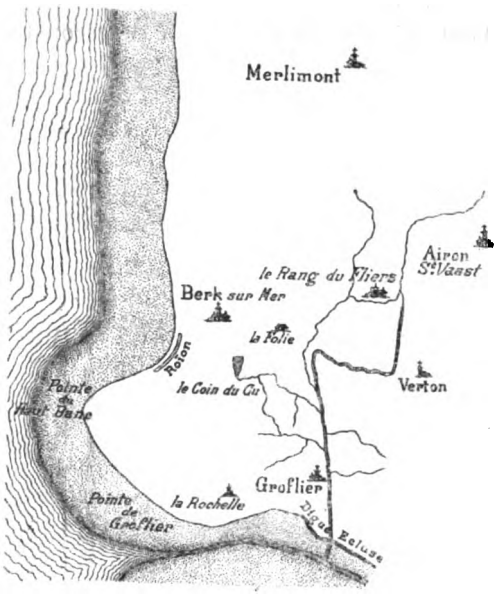


Fig. 48. — Environs de Berck en 1760, d'après la carte de Cassini.

Des cartes plus anciennes, telles que la carte marine de « la Coste de Picardie de Saint-Vallery-en-Soume à la pointe d'Alpreck » dressée par le Sr de la Favolière (1671) nous montrent (fig. 49) que

Digitized by Google

la concavité de la côte à la fin du XVIIIe siècle n'était que la trace d'une rivière à large estuaire qui passait à *Berque*, amenant les eaux d'une petite rivière prenant sa source vers « *les Hérons* »; c'était la Petite Arche qui venait se jeter à Berque, si bien que Berck-Ville actuel, situé maintenant à 3 kilom. de la mer, était à la fin du XVIIe siècle un port de pêche; cette carte de 1671, ainsi que toutes les autres de cette époque, ne signalent pas de ruisseau passant à *Grofilliers* pour se jeter dans l' « *Auty* ».

Quelles modifications successives a subies la région de 1706 à 1760 ; c'est ce qu'il est facile de reconstituer par des cartes locales que j'ai pu consulter chez M. Malingre, conseiller municipal de Berck ; une carte de 1735 (fig. 50) intitulée : « *Plan du terrain abandonné par la mer et donné par Sa Majesté au Sr du Halloy par brevet en 1729, confirmé par arrêt de son conseil privé en 1731, lequel est situé entre Groffliers et Berck, par Nolin, géog.* » indique au niveau de Berck l'existence de l'ancienne rivière d'Airon formant « *le Val ou Port de Berck où la mer n'entre plus* » ; cet ancien port est en effet à cette date isolé de la mer par une « *Haij morte qui a formé une digue* » ; le port s'était évidemment ensablé peu à peu, la mer abandonnant l'estuaire, d'où la concession du terrain abandonné au Sr du Halloy et qui correspond à une partie des molières actuelles. L'ancien port a été isolé de la mer par des fascines et reporté au-delà de celle-ci ; c'est cette digue qui se retrouve dans la carte de Cassini sous le nom de Roïon.

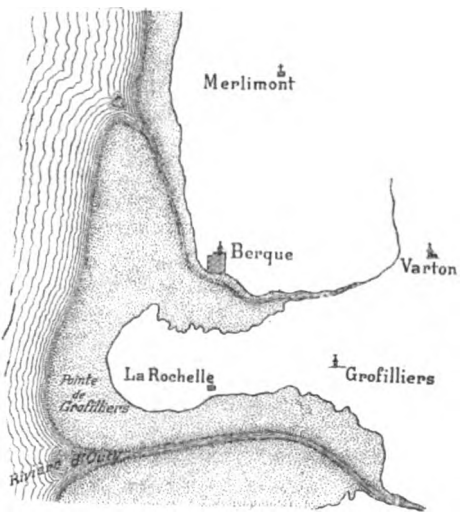


Fig. 49. — Environs de Berck en 1671, d'après la carte du Sr de la Favolière.

Cette même carte de 1735 donne l'emplacement de digues, celles de Groffliers et des Graveaux, sur la rive gauche de la rivière

Digitized by Google

d'Airon, celle de Verton sur la rive droite, qui avaient été établies antérieurement, à une époque où, loin de se retirer, la mer menaçait la languette de terrain située entre les estuaires de la rivière d'Airon et de l'Authie ; cette ligne de digues, dont on retrouve actuellement l'emplacement, était traversée par la rivière d'Airon qui s'y trouvait éclusée ; c'est en avant de cette *ancienne écluse*, au point où la rivière faisait un coude, que se retrouvera plus tard, comme restes de l'estuaire, le Coin du Cu, puis les mares saumâtres actuelles.

L'ancienne rivière d'Airon, ne pouvant plus se jeter dans la mer à Berck, ses eaux furent détournées et conduites à l'Authie par le canal que nous trouvons tracé sur la carte de Cassini et qui est appelé sur la carte de 1735 qui nous occupe le « *Val de Ponthieu* » ; il fut construit une « *nouvelle écluse* » à Groffliers ; c'est l'écluse actuelle de la Petite Arche.

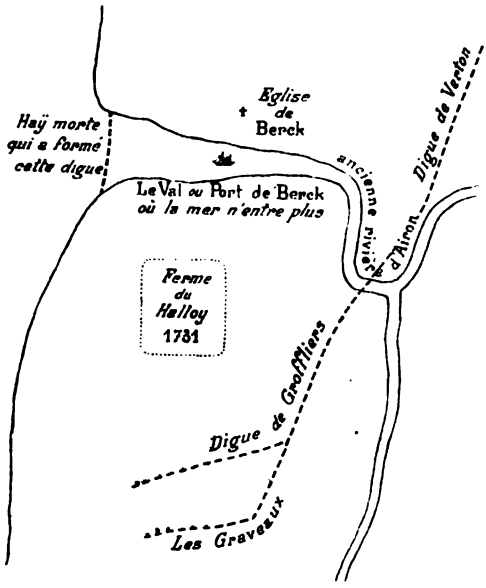


Fig. 50. — Plan de Berck de 1735 (croquis d'après une carte de Nolin).

Le port de Berck s'est complètement asséché ; en avant de la digue qui l'a obstrué définitivement le sable s'est accumulé de plus en plus reportant le rivage là où il se trouve actuellement, c'est-à-dire à 1 kilom. environ de la digue ; l'emplacement de la rivière d'Airon correspond à la route actuelle de Berck-Ville à Berck-Plage et de l'estuaire ancien il ne reste comme témoins que les mares qui ont attiré notre attention.

Comment expliquer que ces mares continuent à être salées, sans qu'il se produise d'infiltration ? Il me paraît que l'explication la plus satisfaisante consiste à admettre que le sol qui constitue le

Digitized by Google

fond de ces mares étant très limoneux, comme cela arrive dans les estuaires de la Canche et de l'Authie, du sel a pu y subsister jusqu'à notre époque, les eaux de pluie ne pouvant l'entraîner, du moins rapidement, ni en profondeur ni latéralement ; ce serait ainsi toujours le même sel qui rendrait les mares d'autant plus salées que l'eau serait en plus petite quantité. Sur une carte locale de 1817 il est figuré près de l'ancienne écluse un château dénommé « les Salines », ce qui tendrait à faire penser qu'il a pu exister sur les bords de l'ancien estuaire une exploitation du sel, analogue à celle qui a lieu actuellement dans la baie de la Canche ; peut-être la région à Salicornes n'est-elle qu'un reste de ces salines.

Le terrain d'alentour de toute cette région paraît d'ailleurs contenir une quantité appréciable de chlorure de sodium, car l'eau du fossé situé près des mares saumâtres, ainsi que le ruisseau qui le fait communiquer avec la Petite Arche, contient jusqu'à 0,4 °/₀ de sel dans la saison sèche ; il est difficile d'admettre que c'est un reflux de l'eau de mer traversant accidentellement l'écluse qui rende saumâtre cet affluent ; il est en effet situé à plus de 3 kilom. de l'estuaire de l'Authie et de plus, si cela était, on devrait, contrairement à ce qu'on constate, trouver une flore saumâtre tout le long de la Petite Arche, depuis l'ancienne écluse jusqu'à l'écluse de Groffliers.

Quelle que soit du reste la valeur de l'explication que nous venons de fournir en ce qui concerne le maintien du sel dans la région étudiée, ce que nous voulons retenir et qui se trouve établi par les remarques qui précèdent, c'est que, conduit par la configuration générale et par l'examen de la flore de la région à l'hypothèse de l'existence d'un ancien estuaire, cette hypothèse s'est trouvée confirmée par l'étude postérieure que nous avons été amené à faire des anciennes cartes du pays ; cela montre d'une manière frappante le lien étroit qui existe entre la flore actuelle d'une contrée et les modifications successives que celle-ci a subies dans son relief.

J'ai retrouvé dans la baie de la Canche un très petit espace de terrain où la flore présente les mêmes caractères que dans le reste de l'ancien estuaire de Berck ; c'est à la hauteur de Paris-Plage, où il existe entre les dunes une sorte de petite plage secondaire qui était jusqu'à ces dernières années envahie par l'eau de mer aux

Digitized by Google

grandes marées d'équinoxe ; on a isolé récemment de la mer cette sorte de crique au moyen d'une petite digue de terre ; or on y observe vers le centre des *Salicornia* et des *Suæda* ayant tout-à-fait le même aspect que ceux que nous avons décrits précédemment ; sur le pourtour on rencontre de nombreux *Glaux maritima* L., des *Anagallis tenella* L. et des *Anagallis phœnicea* Lmk. au feuillage rougeâtre, semblables à ceux qu'on observe assez fréquemment dans les mares asséchées de la partie supérieure des dunes.

Les conditions que nous retrouvons ici sont entièrement comparables à celles qui ont présidé à la constitution de la flore des mares saumâtres des molières ; elles sont simplement d'origine beaucoup plus récente.

Digitized by Google

RECHERCHES CHIMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES

SUR

LA DIGESTION DES MANNANES ET DES GALACTANES,

par la séminase,

CHEZ LES VÉGÉTAUX

par Henri HÉRISSEY *(Fin)*

Chapitre IV

APPLICATION DES CONNAISSANCES ACQUISES AUX PHÉNOMÈNES OBSERVÉS CHEZ LES VÉGÉTAUX, DANS L'UTILISATION PHYSIOLOGIQUE DES MANNANES ET DES GALACTANES.

Tous les essais relatés précédemment mettent au jour la possibilité de réaliser dans des expériences de laboratoire, sous l'influence de ferments solubles d'origine diverse, la digestion de certaines mannanes et de certaines galactanes déterminées. Le ferment a été souvent emprunté à la Luzerne, mais on a vu qu'il était susceptible d'être tiré d'autres organismes végétaux. Les produits ultimes de la digestion, mannose et galactose, ont été isolés à l'état cristallisé, de telle sorte qu'il ne reste à l'heure actuelle aucun doute sur la nature générale de l'action fermentaire.

Devons-nous admettre que dans la plante vivante, les phénomènes se passent de la même façon que nous les avons vus réalisés *in vitro*? C'est dans le but de résoudre cette question qu'ont été instituées les expériences qui vont être relatées dans ce chapitre.

Je n'ai abordé cette étude qu'au point de vue physiologique pur ; j'ai donc laissé dans l'ombre tout le côté histologique ou anatomique. Cette face de la question, pour tout ce qui touche aux albumens

Digitized by Google

des Légumineuses, a du reste été longuement envisagée par NADELMANN (1).

La disparition de l'albumen accompagne, comme on sait, la germination de la graine ; l'examen macroscopique seul suffit amplement pour constater le phénomène chez les graines qui possèdent le caractère d'être assez volumineuses et de renfermer en même temps un albumen relativement très développé ; tel est, par exemple, le cas des graines de Caroubier, de Févier d'Amérique, de Canéficier. Pour les petites graines, l'examen microscopique permet de suivre très nettement la disparition de l'albumen, dont l'étude peut également être abordée par voie analytique.

Il suffirait de soumettre à l'hydrolyse par l'acide sulfurique étendu et bouillant, des lots égaux de graines prises à des temps variables de germination pour constater la diminution graduelle de la quantité primitive de mannanes et de galactanes contenues dans ces graines. En s'adressant à des espèces végétales convenablement choisies, on peut rendre encore l'expérimentation beaucoup plus simple. Si l'on prend par exemple des graines de Luzerne ou de Trèfle (*Trifolium repens*), on constate, comme nous l'avons déjà fait remarquer au moins pour la première espèce, que les graines entières mises à macérer dans l'eau se gonflent considérablement, mais ne sont pas susceptibles de former un macéré donnant avec l'alcool un précipité d'hydrate de carbone. Au contraire, la graine broyée fournit avec l'eau un liquide visqueux, difficilement filtrable, dans lequel l'addition d'alcool détermine la formation d'un abondant précipité blanc filamenteux consistant presque totalement en un mélange de mannanes et de galactanes qui proviennent de l'albumen de la graine. Si l'on s'adresse aux graines complètement germées, on constate que la macération de ces graines n'est plus visqueuse ; l'addition d'alcool à cette macération provoque seulement la formation d'un trouble qui se résout en un précipité floconneux ; ce précipité est extrêmement faible ; il ne rappelle en rien le précipité volumineux et filamenteux qu'on a obtenu avec les liquides provenant des graines broyées avant leur germination.

Cette expérience est facile à répéter avec les graines de Légumineuses à albumen corné dont la germination se fait en quelques

(1) H. Nadelmann : Ueber die Schleimendospermen der Leguminosen; *Jahrb. f. wissensch. Bot.*, XXI, p. 609, 1890.

Digitized by Google

jours, rapidement et régulièrement ; on peut alors opérer sur des lots de plantules se présentant toutes au même état de développement.

Cette disparition des hydrates de carbone de l'albumen corné des Légumineuses, au cours de la germination, doit être sans contredit rattachée à l'action de la séminase, dont la présence a été précédemment démontrée à ce moment dans les graines. Il paraît bien évident qu'on aura des sources d'autant plus abondantes de séminase qu'on s'adressera à des graines susceptibles de germer plus rapidement, et, par suite, de consommer plus vite les matières de réserve accumulées dans leur endosperme. C'est à ce point de vue que les graines de Luzerne germées se présentent comme une matière première des plus favorables à l'obtention de la séminase.

Jusqu'à présent, au point de vue de la sécrétion de ce ferment, nous n'avons donc considéré que les graines en voie de transformations aboutissant à une plantule. A l'heure actuelle, une question vient naturellement se poser, celle de l'apparition du ferment étudié. La séminase se rencontre-t-elle exclusivement pendant la germination, dans les graines ; ou bien existe-t-elle déjà dans la graine au repos ?

En procédant par assimilation, on peut penser que c'est la seconde hypothèse qui correspond à la réalité des faits. De même qu'il existe de petites quantités de diastase (amylase) dans les graines à albumen amylacé au repos, de même il est permis de supposer qu'il y a dans les graines à albumen corné une petite proportion de séminase destinée à fournir à l'embryon les premières matières sucrées provenant de son action sur les mannanes et les galactanes de l'albumen. Cette séminase serait le *primum movens* qui commencerait l'utilisation des matières de réserve contenues dans ce dernier.

Recherche et caractérisation du saccharose dans les graines de Légumineuses. — Je dois faire remarquer toutefois qu'il existe dans les graines de Légumineuses une matière sucrée dont l'utilisation doit être très précoce au cours de la germination. Cette matière sucrée n'est autre que le sucre de canne.

Bien que la recherche du sucre de canne soit en dehors du cadre

Digitized by Google

que j'ai voulu remplir dans ce travail, je crois néanmoins qu'il est bon d'indiquer, d'une façon très résumée, les résultats que m'a fournis à ce point de vue l'étude de quelques graines de Légumineuses. En dehors de la petite quantité d'amidon qu'on rencontre dans certaines graines à albumen corné appartenant à cette famille, il n'était pas d'ailleurs sans intérêt de chercher s'il n'existe pas, à côté des mannanes et des galactanes, des hydrates de carbone de réserve possédant une condensation moléculaire moins élevée.

Pour caractériser et même doser le sucre de canne, j'ai suivi la méthode imaginée par M. Bourquelot (1). Cette méthode, qui repose sur l'emploi de l'invertine comme agent hydrolysant du sucre de canne, trouve sa vérification dans la concordance du calcul théorique du pouvoir rotatoire des liquides examinés avec les données expérimentales que fournit l'analyse de ces liquides à la liqueur cupro potassique, ainsi que leur examen au polarimètre.

La graine, préalablement moulue, était traitée à l'ébullition par l'alcool à 80°. On prenait un volume déterminé du liquide alcoolique refroidi ; on l'évaporait en présence de carbonate de chaux, puis on amenait le résidu à un volume convenable, avec de l'eau thymolée. C'est sur cette dernière liqueur qu'on faisait les déterminations analytiques, avant et après action de l'invertine. Sans entrer dans le détail fastidieux des opérations, qu'il me suffise d'indiquer que j'ai pu caractériser la présence du sucre de canne dans les six graines de Légumineuses que j'ai examinées, et qui appartiennent aux espèces suivantes : Caroubier, Fenugrec, Févier d'Amérique, Luzerne, Mélilot blanc, Minette.

Les quantités de saccharose trouvées, rapportées à 100 gr. de semences séchées à l'air, ont été de :

Caroubier	1 gr., 58	Luzerne	1 gr., 24
Fenugrec	1 gr., 58	Mélilot blanc	0 gr., 83
Févier d'Amérique . . .	2 gr., 22	Minette.	0 gr., 629

J'ai poussé la recherche plus loin, en cherchant à isoler le saccharose à l'état cristallisé et pur. Je me suis adressé, dans ce but, à la graine qui paraissait la mieux appropriée à cet essai, à celle de Févier d'Amérique qui contient, comme on vient de le voir, une quantité de sucre supérieure à celle des autres graines. En opérant

(1) Recherche dans les végétaux du sucre de canne à l'aide de l'invertine, et des glucosides à l'aide de l'émulsine; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXXIII, p. 620, 1901.

Digitized by Google

sur 1.000 gr. de Févier, correspondant par conséquent sensiblement à 22 gr. de saccharose, j'ai pu, par des traitements appropriés, extraire quelques grammes de ce dernier principe à un complet état de pureté, en gros cristaux incolores dont le pouvoir rotatoire a été trouvé :

$$\alpha_D = + 65^\circ,77 \quad (v = 100, \quad l = 2, \quad p = 2,026, \quad \alpha = 2^\circ 40')$$

La présence du sucre de canne dans les graines de Légumineuses n'a rien qui doive surprendre ; en effet, les connaissances acquises sur la répartition de ce principe dans le règne végétal amènent « pour ainsi dire, à penser que le sucre de canne est une sorte de principe nécessaire aux échanges nutritifs, dans toutes les plantes phanérogames (1). »

De la séminase dans les graines au repos. — Après cette parenthèse ouverte à propos de la présence du saccharose à côté des mannanes et des galactanes dans les semences de Légumineuses à albumen corné, il nous faut revenir sur la question de l'apparition de la séminase, ce ferment étant destiné à fournir à la jeune plantule les moyens d'utiliser pour son développement les mannanes et les galactanes précédemment mises en réserve.

Les premières recherches que M. Bourquelot et moi (2) avions faites à ce sujet, nous avaient déjà permis de conclure avec une entière certitude qu'il existe de la séminase dans la graine, même avant toute germination.

Les essais avaient porté sur les graines de Luzerne et sur les graines d'Indigo. La graine préalablement moulue était délayée dans de l'eau ; on ajoutait du chloroforme au mélange, dans la proportion de 15 cc. pour 1000 cc. de liquide, puis on abandonnait le mélange pendant trois mois, dans un flacon bien bouché, à la température de 20°-21°. Au bout de ce temps, on filtrait à la trompe et le liquide était soumis à l'analyse.

Dans ces conditions, nous avions pu constater la présence du mannose et du galactose dans la liqueur provenant de la macération de la graine ; et même, avec la graine d'Indigo, le mannose

(1) Em. Bourquelot : Le sucre de canne dans les réserves alimentaires des plantes phanérogames ; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXXIV, p. 718, 1902.

(2) Em. Bourquelot et H. Hérissey : Sur la présence de séminase dans les graines à albumen corné au repos ; *C.-R. Ac. Sc.*, CXXXI, p. 903, 1900.

Digitized by Google

avait pu être isolé en quantité suffisante pour qu'il fut possible d'en déterminer les constantes physiques, en particulier le pouvoir rotatoire.

A la suite de ces essais, j'ai cherché à mettre en évidence, chez d'autres espèces de Légumineuses, la présence de la séminase dans la graine à l'état de repos. Je suis arrivé à établir une méthode de recherches telle que les essais sont devenus extrêmement démonstratifs, et en même temps, très faciles à réaliser.

Les premières tentatives que j'ai faites dans ce but ont été réalisées dans des conditions expérimentales à peu près semblables à celles qui viennent d'être décrites pour la Luzerne et pour l'Indigo.

200 gr. de graines préalablement moulues étaient additionnées de 800 cc. d'eau et de 15 cc. de chloroforme. Les mélanges, épais et visqueux, abandonnés à eux-mêmes vers 25°, se fluidifiaient peu à peu, quoique très lentement, et pouvaient être soumis à la filtration après environ 2 à 3 mois. Les liqueurs renfermaient alors une certaine quantité de sucres réducteurs (1). Dans le mélange de ces derniers, on pouvait caractériser le mannose par formation de mannosehydrazone, après addition d'acétate de phénylhydrazine, et le galactose par production d'acide mucique, dans le traitement du mélange sucré par l'acide nitrique.

J'ai fait ainsi, en particulier, une expérience qui a été prolongée pendant quatre mois, avec les graines des espèces suivantes : *Cytisus Laburnum* L., *Robinia Pseudacacia* L., *Sarothamnus scoparius* Koch, *Trigonella Fœnum-græcum* L., *Ulex europæus* L.

Le dosage du mannose formé n'a pas été effectué dans l'essai conduit avec la graine de Fenugrec ; dans les expériences faites avec les autres espèces, ce sucre a été isolé à l'état de mannosehydrazone. Voici les quantités de mannosehydrazone correspondant à 1000 cc. du liquide obtenu par filtration du mélange fermentaire.

Cytisus Laburnum . . .	9 gr., 01	*Sarothamnus scoparius* .	10 gr., 83
Robinia Pseudacacia . .	2 gr., 54	*Ulex europæus*	9 gr., 83

Dans les conditions expérimentales précédentes, la digestion de l'albumen, quoique nette et facile à démontrer, se fait avec une

(1) Les graines de Légumineuses séchées à l'air ne contiennent pas la plupart du temps de sucre réducteur en quantité appréciable. La recherche n'en révèle le plus souvent que des traces indosables ou même douteuses.

Digitized by Google

grande lenteur. Comme d'autre part les semences sur lesquelles on a opéré n'ont pas un albumen très développé, relativement au poids total de la graine, il s'ensuit que les sucres provenant de la digestion des hydrates de carbone de cet albumen ne se trouvent pas en forte proportion dans le mélange fermentaire final.

J'ai cherché à rendre les essais beaucoup plus démonstratifs, d'une part, en modifiant le milieu dans lequel devait s'exercer l'action de la séminase, et d'autre part, en choisissant comme sujets d'étude des graines possédant un volumineux albumen. Après bien des tâtonnements, j'ai suivi une méthode expérimentale en même temps très simple et très démonstrative.

Expériences avec les graines de Caroubier.

I. — 500 gr. de semences de Caroubier finement moulues ont été mises à macérer à l'étuve, à 33-35°, dans 4000 cc. d'eau distillée additionnés de 60 gr. de fluorure neutre de sodium, soit 1 gr., 50 pour 100 cc. d'eau.

Le mélange, d'abord épais et visqueux, est devenu graduellement très fluide ; on l'a retiré de l'étuve au bout de 9 jours, puis, après 24 heures, exprimé et filtré. On a recueilli sensiblement 2700 cc. de liquide contenant des sucres réducteurs; la proportion de ces derniers (évaluée en dextrose), a été trouvée égale à 43 gr., 86 pour 1000 cc. La totalité du liquide a été additionnée d'une quantité convenable d'acétate de phénylhydrazine, ce qui a déterminé rapidement à froid la formation d'un abondant précipité de mannosehydrazone. Le précipité lavé à l'eau, à l'alcool à 95°, à l'éther et séché, pesait 115 à 116 grammes ; il était à peine jaunâtre et en tout cas bien moins coloré que celui qu'on obtient dans l'hydrolyse correspondante effectuée par les acides minéraux étendus et bouillants. Traitée par l'aldéhyde benzoïque, la mannosehydrazone obtenue a donné du mannose cristallisé incolore et pur, qui a pu être caractérisé par son point de fusion et son pouvoir rotatoire.

On avait préparé comparativement un mélange d'eau et de semences dans les proportions indiquées ci-dessus et l'on avait eu soin, avant l'addition de fluorure de sodium, de porter quelque temps le mélange à l'autoclave vers 105°, de façon à détruire complètement tout ferment ; dans ces conditions, on a constaté que le mélange ainsi obtenu reste entièrement solide non seulement après

Digitized by Google

un mois de séjour à l'étuve, mais même après plus d'un an de conservation, après qu'on l'a retiré de l'étuve et abandonné à la température ordinaire. C'est donc bien à une action diastasique qu'il faut attribuer la saccharification des hydrates de carbone de l'albumen.

II. — Si l'on fait une expérience simultanée, en employant comme antiseptique le chloroforme (60 cc. pour 4.000 cc. d'eau), à la place du florure de sodium, on constate que la saccharification de l'albumen se fait beaucoup plus lentement. C'est ainsi qu'après 14 jours d'étuve à 33-35°, 1.000 cc. du liquide renfermaient seulement 8 gr., 61 de sucres réducteurs. Le mélange était encore extrêmement visqueux et filtrait avec beaucoup de difficulté. L'essai à la liqueur de Fehling n'a pu être pratiqué qu'après addition d'alcool au liquide fermentaire, ce qui a déterminé la production d'un volumineux précipité filamenteux ; le liquide, séparé du précipité par filtration, a été évaporé pour chasser l'alcool, ramené à un volume déterminé par addition d'eau distillée et c'est dans la liqueur ainsi obtenue qu'on a dosé le sucre réducteur au moyen du réactif cupro-potassique.

Comme dans l'expérience avec le fluorure de sodium, le mélange témoin, porté quelque temps à l'autoclave vers 105°, avant addition de chloroforme, est resté complètement solide.

III. — J'ai examiné comparativement les différences susceptibles de se manifester dans l'activité de la séminase de la graine au repos, suivant les variations du milieu. L'expérience a été faite en présence — 1° de fluorure de sodium seul, — 2° de fluorure de sodium et de carbonate de chaux destiné à neutraliser toute acidité contenue dans la graine, — 3° de chloroforme seul, — 4° de fluorure de sodium et de chloroforme.

On a disposé les mélanges suivants :

1		2	
Graines de Caroubier moulues	25 gr.	Graines de Caroubier moulues	25 gr.
Eau distillée	200 cc.	Eau distillée	200 cc.
Fluorure de sodium	3 gr.	Fluorure de sodium	3 gr.
		Carbonate de chaux	2 gr.

3		4	
Graines de Caroubier moulues	25 gr.	Graines de Caroubier moulues	25 gr.
Eau distillée	200 cc	Eau distillée	200 cc.
Chloroforme	3 cc.	Fluorure de sodium	3 gr.
		Chloroforme	3 cc.

Digitized by Google

On les a abandonnés pendant 7 jours à l'étuve à 33-35°, en ayant soin de les agiter environ deux fois par jour. Tous étaient alors plus ou moins liquéfiés ; on les a filtrés, et, dans 100 cc. de chaque liquide filtré, on a ajouté respectivement 25 cc. de phénylhydrazine au cinquième, en solution acétique. Voici les poids d'hydrazone correspondant aux divers mélanges.

1	2	3	4
3 gr., 47	1 gr., 22	»	0 gr., 55

La mannosehydrazone provenant du mélange 3 n'a pu être recueillie à cause de certaines difficultés expérimentales ; elle était d'ailleurs en quantité beaucoup plus faible que dans les autres mélanges.

Une fois de plus, il ressort nettement de cette expérience que le chloroforme est loin d'être favorable à l'action de la séminase ; même en présence de fluorure de sodium, il ralentit considérablement la saccharification des hydrates de carbone de l'albumen. Il en est de même de l'addition de carbonate de chaux aux mélanges fermentaires.

Comme je m'en suis assuré, au moins à des doses semblables, on n'a aucun avantage à remplacer le fluorure de sodium par d'autres fluorures tels que le fluorure de potassium, le fluorure d'ammonium, le fluorure acide de potassium et le fluorure acide de sodium. Dans l'emploi de ces divers antiseptiques, les résultats obtenus sont beaucoup moins bons qu'avec le fluorure neutre de sodium. Par contre, comme j'ai pu le constater au cours de plusieurs essais, le toluène peut être avantageusement substitué à ce dernier ; il permet une saccharification aussi avancée, sinon même plus complète des mannanes et de galactanes par la séminase.

Expériences avec les graines de Févier d'Amérique

I. — 500 gr. de semences de Févier d'Amérique finement moulues ont été mises à macérer à 33-35° dans 4000 cc. d'eau additionnés de 60 gr. de fluorure de sodium. Le mélange est devenu graduellement très fluide ; on a retiré de l'étuve au bout de 7 jours. Après refroidissement, on a exprimé, filtré et recueilli sensiblement 3500 cc. de liquide. 100 cc. de ce liquide, additionnés d'acétate de phénylhydrazine, ont donné 3 gr., 18 de mannosehydrazone à peine teintée de jaune.

Digitized by Google

Une certaine portion du liquide filtré a été conservée à l'étuve, de manière à suivre les progrès de la saccharification. 37 jours après le commencement de l'expérience, 100 cc. ont donné 3 gr., 53 de mannosehydrazone ; 5 mois après ce dernier essai, la proportion trouvée a été de 3 gr., 70.

Comme pour la graine de Caroubier, le mannose, régénéré de la mannosehydrazone par l'aldéhyde benzoïque, a pu être obtenu à l'état pur et cristallisé.

Si l'on traite quelque temps à l'autoclave le mélange de graines et d'eau, la masse mise à l'étuve reste indéfiniment solide, sans qu'il se produise par conséquent aucune saccharification.

II. — On a examiné comparativement l'action du fluorure de sodium et celle du chloroforme sur la digestion des mannanes et des galactanes de la graine de Févier, par la séminase contenue dans la graine au repos.

On a préparé les mélanges suivants :

1		2	
Semences de Févier moulues	25 gr.	Semences de Févier moulues.	25 gr.
Eau distillée	200 cc.	Eau distillée	200 cc.
Fluorure de sodium . . .	3 gr.	Chloroforme	3 cc.

3	
Semences de Févier moulues.	25 gr.
Eau distillée	200 cc.
Fluorure de sodium. . . .	3 gr.
Chloroforme	3 cc.

On les a laissés à l'étuve à 33-35° pendant 7 jours ; au bout de ce temps, le mélange 2, quoique liquéfié, était encore très épais et n'a pu être filtré. Au contraire les mélanges 1 et 3 ont fourni un filtrat très fluide dans lequel le mannose a été précipité par l'acétate de phénylhydrazine.

100cc de liquide ont donné les poids de mannosehydrazone suivants :

1	3
3 gr., 07	1 gr., 23

De cette expérience ressortent nettement l'action empêchante du chloroforme et l'action favorisante du fluorure de sodium.

Au point de vue de la recherche des sucres formés dans la digestion des hydrates de carbone contenus dans l'albumen, par la séminase des graines au repos, nous n'avons guère envisagé jusqu'ici

Digitized by Google

que le mannose. C'est que ce dernier sucre est beaucoup plus facile à rechercher et à mettre en évidence que le galactose. En réalité, la séminase des graines au repos saccharifie à la fois les galactanes et les mannanes : les liquides fermentaires, additionnés d'alcool pour précipiter les hydrates de carbone non saccharifiés, filtrés, évaporés, puis traités par l'acide nitrique de densité convenable, fournissent de l'acide mucique, indice du galactose qu'ils tiennent en solution.

On a vu au chapitre II que j'avais, sans succès d'ailleurs, tenté d'extraire le galactose de pareils mélanges ; j'avais pensé que la grande quantité de sucre qu'ils contiennent devait être un sûr garant de réussite dans le but à atteindre, mais je n'ai pas tardé à me rendre compte des difficultés que présentait une pareille extraction. Il se produit dans ces expériences une véritable autodigestion de la graine, à laquelle n'échappent pas plus les matières de réserve de nature diverse contenues dans l'embryon que les hydrates de carbone de réserve de l'albumen. On a donc affaire à des solutions des principes immédiats très variés, contenant sans doute, en particulier, des substances analogues aux peptones, substances provenant des matières albuminoïdes contenues dans la graine.

Mais si le galactose ne peut être facilement isolé, il en est tout autrement du mannose, à tel point que les expériences conduites avec des graines comme le Caroubier et le Févier peuvent constituer des méthodes de préparation du mannose extrêmement avantageuses sinon pécuniairement, du moins au point de vue de leur grande simplicité.

Il suffit d'abandonner, dans les conditions indiquées, la quantité voulue de graines, pour obtenir au bout de quelques jours, avec la seule précaution d'agiter les mélanges de temps en temps, des liquides riches en matières sucrées, dont le mannose peut être facilement retiré à l'état de mannosehydrazone. Il est bon d'ajouter d'abord de l'acide acétique aux liqueurs filtrées. Si le liquide se trouble ou donne un précipité du fait de cette addition, il faut le filtrer avant d'y mélanger la phénylhydrazine. Comme la mannosehydrazone ainsi obtenue est très peu colorée, il suffit de l'essorer et de la laver avec de l'eau distillée. Sans la laver à l'alcool et à l'éther, et sans la mettre sécher, on peut immédiatement la délayer

Digitized by Google

dans l'eau et la décomposer par l'aldéhyde benzoïque. Le mannose, qu'on retire du produit de la réaction par un traitement convenable, peut être facilement obtenu cristallisé et pur.

La présence de séminase, dans la graine à l'état de repos, peut être mise en relief chez beaucoup d'autres espèces de Légumineuses à albumen corné, mais les résultats de l'expérience sont loin d'être toujours aussi nets que dans les essais faits avec les graines de Caroubier ou de Févier d'Amérique ; ils n'en sont cependant pas moins concluants. C'est ainsi que la graine de *Galega officinalis*, mise à macérer à 33-35° dans 8 parties d'eau contenant 1 gr., 50 de fluorure de sodium pour 100 cc., permet, après quelques jours, d'obtenir un liquide dans lequel l'acétate de phénylhydrazine détermine la formation d'un précipité faible, mais caractéristique de mannosehydrazone.

Si la séminase existe déjà dans la graine avant toute germination, il ne s'ensuit point que la proportion suivant laquelle elle s'y trouve ne soit pas susceptible de s'accroître encore au cours du développement de l'embryon en plantule. On sait très bien, à cause de l'importance industrielle que le fait présente, que la diastase contenue dans l'Orge germée atteint son maximum à un moment déterminé. C'est précisément à ce moment qu'on arrête la germination, en desséchant le produit à une température convenable, lorsqu'il s'agit d'en retirer le ferment qu'il contient, pour déterminer *in vitro* la saccharification des matières amylacées.

De même, la quantité de séminase contenue dans la graine au repos croît pendant la période de germination et atteint un maximum au bout d'un certain temps. Ce temps varie nécessairement suivant la graine considérée et aussi suivant les conditions dans lesquelles on la fait germer. Avec les graines de Luzerne, nous avons vu, M. Bourquelot et moi, que la quantité de ferment hydrolysant les hydrates de carbone des albumens cornés atteint son maximum au bout de 36 à 48 heures de germination à 27°-30°. Si on voulait utiliser avec profit d'autres graines comme source de séminase, il faudrait évidemment les soumettre à des essais analogues à ceux que nous avons pratiqués sur la graine de Luzerne.

Digitized by Google

Digestion des mannanes dans les tubercules d'Orchidées. — J'ai montré dans le chapitre précédent qu'il était possible de saccharifier les mannanes contenues dans les tubercules d'Orchidées en faisant agir sur elles des ferments sécrétés par les graines de Légumineuses en germination, ou encore par des moisissures telles que l'*Aspergillus niger*. On vient de voir d'autre part qu'il faut assimiler entièrement les phénomènes qui se passent dans les graines à albumen corné en germination à ceux qu'il est possible de déterminer expérimentalement dans le laboratoire.

L'assimilation se poursuit-elle ailleurs que dans les graines? En d'autres termes, les mannanes contenues dans d'autres organes de réserve, tels que les tubercules, chez les Orchidées par exemple, sont-elles susceptibles de se comporter d'une façon analogue, c'est-à-dire de fournir du mannose sous l'influence de ferments développés dans l'organe même qui les renferme? C'est pour éclaircir ce point tout à fait important qu'ont été instituées les expériences qui vont être décrites.

Les essais ont porté précisément sur les espèces qui ont déjà été utilisées dans les recherches faites avec la séminase de la Luzerne, et même sur quelques autres espèces encore. Je me suis astreint à suivre une méthode expérimentale à peu près uniforme de façon à pouvoir en tirer quelques résultats comparatifs.

Salep. — Bien que dans la préparation du salep on prenne soin la plupart du temps d'échauder les tubercules à l'eau bouillante, circonstance des plus défavorables à la bonne marche de mes essais, j'ai cru néanmoins devoir faire avec ce produit une expérience qui m'a d'ailleurs donné un résultat positif.

Le salep (1) avait été pulvérisé spécialement au moulin. Il a servi à préparer deux mélanges possédant une composition identique :

Salep pulvérisé.	50 gr.
Eau distillée	400 cc.
Fluorure de sodium	6 gr.

mais l'un des mélanges a été abandonné tel quel à 33-35° pendant 7 jours (mélange 1), tandis qu'on avait eu soin de porter préalablement l'autre mélange (mélange 2) dans un bain de vapeur d'eau à

(1) Je ne reviendrai pas sur les détails relatifs au choix ou à la récolte des espèces d'Orchidées déjà étudiées au chapitre II, à un autre point de vue.

Digitized by Google

100°, pendant quelque temps, après que le produit avait eu le temps de se bien gonfler dans l'eau (1).

Le mélange 2 était resté entièrement solide, le mélange 1 était tout à fait liquide et filtrait facilement; on a pu recueillir sans expression plus de 200 cc. de liquide. Une partie du liquide a été additionnée d'alcool, débarrassée par filtration du précipité produit, évaporée à un petit volume, puis additionnée d'acétate de phénylhydrazine. On a ainsi obtenu une faible quantité de mannosehydrazone dont il a été possible de régénérer le mannose à l'état cristallisé. La quantité de mannosehydrazone isolée ne correspondait guère à plus de 1 gr. à 1 gr., 20 pour 100 gr. de salep primitif; la digestion moins prolongée du même salep, traité préalablement par l'alcool bouillant, réalisée par les ferments de la Luzerne, avait permis d'obtenir environ 14 gr. de mannosehydrazone pour 100 gr. de salep traité par l'alcool, soit sensiblement 12 gr., 60 pour 100 gr. de salep primitif.

L'expérience est néanmoins très concluante: comme le salep utilisé ne contenait pas trace de mannose à l'origine, il faut bien admettre que le sucre qui a été trouvé s'est produit au cours de l'essai, par suite d'une autodigestion des tubercules, comparable à celle décrite plus haut pour les graines de Légumineuses à albumen corné.

Loroglossum hircinum Rich. — 100 gr. de tubercules frais, pilés avec du sable, ont été mis à macérer pendant 4 jours à 30-35°, puis 15 jours à 15-17°, en présence de 200 cc. d'eau et de 3 gr. de fluorure de sodium. Le mélange, primitivement visqueux, filtrait facilement. Traité par l'acétate de phénylhydrazine, il a fourni sensiblement 0 g., 25 de mannosehydrazone pour 100 cc. La Luzerne agissant sur un mélange identique avait fourni 0 gr., 351 de mannosehydrazone pour le même volume de liquide filtré.

Orchis militaris L. — 50 gr. de tubercules frais pilés, mis en

(1) Lorsqu'on veut détruire par la chaleur les ferments contenus dans des tissus secs analogues à ceux des albumens cornés ou des tubercules d'Orchidées, il importe, si l'on veut que la destruction soit effectivement réalisée, de ne soumettre à l'action de la chaleur le produit préalablement délayé dans l'eau que lorsque le tissu est bien gonflé et bien imprégné de liquide dans toutes ses parties. En négligeant cette précaution, on s'expose à des incertitudes qui jettent beaucoup d'indécision dans les essais.

Digitized by Google

contact pendant 14 jours, à 33-34°, avec 100 cc. d'eau additionnée de toluène, ont donné un liquide fournissant pour 100 cc., 0 gr., 95 de mannosehydrazone. En employant comme source de ferment la poudre de Luzerne germée, on avait obtenu, après 7 jours de digestion, 1 gr., 31 de mannosehydrazone pour 100 cc. de liquide fermentaire.

Orchis montana Schm. — Comme dans les expériences faites avec les ferments de la graine de Luzerne germée, les essais ont porté à la fois sur les tubercules anciens et sur les tubercules jeunes.

100 gr. de tubercules anciens ont été pilés en présence de 200 cc. d'eau et de toluène. Le mélange était épais, sans cependant être complètement pris en masse. Abandonné pendant 7 jours à 33-34° ; il s'est peu à peu complètement liquéfié. 100 cc. de liquide filtré, traités par l'acétate de phénylhydrazine, ont fourni 0 gr., 90 de mannosehydrazone.

Les tubercules jeunes soumis à un traitement analogue donnaient à l'origine une masse tellement épaisse qu'elle pouvait presque s'étirer en fils. La masse devenue fluide a pu être filtrée ; 100 gr. de liquide fournissaient 0 gr., 480 de mannosehydrazone.

Digérés par les ferments de la Luzerne, dans les mêmes conditions de dilution des liquides, les tubercules anciens avaient fourni 0 gr., 90 de mannosehydrazone, et les tubercules jeunes 1 gr., 74.

Orchis bifolia L. — 50 gr. de tubercules (mélange de tubercules anciens et de tubercules jeunes) pilés avec 100 cc. d'eau et 1 cc., 5 de toluène ont donné, après sept jours, à 33-34° un liquide fournissant 0 gr., 83 de mannosehydrazone pour 100°. Avec la Luzerne germée, les tubercules en avaient fourni 1 gr., 189.

Orchis purpurea Huds. — Le liquide d'autodigestion des tubercules, qui étaient volumineux et turgescents, a fourni de la mannosehydrazone qui a été nettement caractérisée, mais qui n'a pu être isolée qu'en quantité extrêmement faible.

Orchis latifolia L. — Les expériences ont été faites dans des conditions à peu près identiques à celles instituées avec l'*Orchis montana*. Les tubercules jeunes, soumis à l'autodigestion, n'ont donné que des traces de mannose. 100 cc. de liquide obtenu avec les tubercules anciens ont fourni sensiblement 0 gr., 20 de mannose-

Digitized by Google

hydrazone, tandis que sous l'influence des ferments de la Luzerne on en avait obtenu 0 gr., 44.

Ophrys muscifera Huds. — Je n'ai opéré que sur une petite quantité (21 gr.) de tubercules frais récoltés dans le commencement de juin. Les tubercules anciens et les tubercules jeunes n'ont pas été séparés. On les a pilés avec le double de leur poids d'eau, additionnés de toluène et abandonnés pendant 14 jours à 33-34°. La masse devenue complètement fluide, après avoir été très épaisse à l'origine, a été filtrée et additionnée d'acétate de phénylhydrazine ; on a obtenu un précipité cristallisé correspondant sensiblement à 0 gr., 06 pour 100 cc de liquide, présentant au microscope tous les caractères de la mannosehydrazone, mais dont l'étude n'a pu être poussée plus loin à cause de la faible quantité recueillie.

Tous les essais faits avec les Orchidées ont porté sur des espèces à tubercules et je dois faire remarquer que les résultats ont été les mêmes avec les espèces à tubercules non divisés et celles à tubercules palmés. Il serait intéressant de répéter ces expériences avec des espèces dépourvues de ces organes de réserve. J'ai fait avec les parties souterraines du *Neottia Nidus-avis* Rich. une seule expérience, qui a été négative, en ce sens que le liquide de digestion ne m'a pas fourni trace de mannosehydrazone; mais il reste sur ce point une grande incertitude, relative précisément à la question de savoir s'il existe aussi des mannanes dans ces espèces d'Orchidées. Dans cet ordre d'idées, les recherches chimiques doivent précéder l'étude physiologique, nous n'avons pas encore acquis des connaissances suffisantes pour nous permettre d'entreprendre avec fruit cette dernière étude.

En nous en tenant aux expériences qui viennent d'être décrites, nous voyons que les mannanes (1) des tubercules d'Orchidées peuvent être transformées en mannose sous l'influence de ferments solubles sécrétés dans les tubercules mêmes qui renferment l'hydrate de carbone de réserve. Si l'on compare les résultats numériques obtenus dans la simple auto-digestion des tubercules à ceux qui résultent de l'action des ferments de la graine de Luzerne sur les

(1) Il n'a pas été question des galactanes dans les expériences faites avec les Orchidées, parce que ces principes n'ont pas été signalés jusqu'ici dans les tubercules des espèces appartenant à cette famille.

Digitized by Google

mêmes hydrates de carbone, on constate que les ferments de la Luzerne germée déterminent une transformation plus avancée des mannanes ; les quantités de mannosehydrazone isolées dans le dernier cas sont toujours supérieures à celles de l'autre série d'essais. Ces résultats sont d'ailleurs en accord avec cet autre fait que j'ai observé, à savoir que le suc cru des tubercules frais d'Orchidées, celui du tubercule de *Loroglossum hircinum* par exemple, est extrêmement peu actif sur l'empois d'albumen de Caroubier; la liquéfaction de l'empois, mélangé de ce suc frais, se fait avec une lenteur extrême et n'est appréciable qu'au bout d'un long temps.

Comme pour les hydrates de carbone des albumens de Légumineuses, l'hydrolyse effectuée par les acides permet une saccharification plus avancée que celle qu'on peut réaliser avec les ferments. Ainsi qu'on l'a vu précédemment, une même quantité d'*Orchis purpurea* a fourni après hydrolyse par les acides, 4 gr., 05 de mannosehydrazone; dans le deuxième cas, elle en a donné seulement 1 gr., 82.

Dans les essais d'autodigestion simple, comme la logique aurait pu permettre de le prévoir, l'expérience a montré que la saccharification des mannanes s'effectue surtout rapidement dans les tubercules anciens, en voie d'utilisation physiologique ; quant aux tubercules jeunes qui fourniront les éléments nutritifs à la tige florale de l'année suivante, ils ne paraissent contenir qu'en quantité tout à fait minime le ferment destiné à saccharifier leurs mannanes de réserve.

Recherche du mannose dans les organes végétaux contenant des mannanes. — En constatant les rapports étroits que le mannose présente avec la mannite au point de vue chimique, Fischer et Hirschberger, au moment de la découverte de ce sucre, ont fait remarquer qu'on pourrait peut-être en déceler la présence dans le règne végétal. Ils recherchèrent, en particulier, le mannose dans le miel et le suc de raisin, mais ils obtinrent des résultats négatifs sur lesquels ils se réservaient alors de revenir. Depuis cette époque (1888), la présence du mannose chez les végétaux phanérogames, n'a été signalée, à ma connaissance, dans aucune publication scientifique.

J'ai pensé que les matériaux les mieux appropriés à la recherche du mannose étaient précisément constitués par ceux qui font le sujet de ce travail, et qu'il fallait surtout s'adresser à des organes

Digitized by Google

végétaux riches en mannanes, en état de vie active, en train de réaliser l'utilisation physiologique de leurs hydrates de carbone de réserve.

J'ai fait dans cette direction un certain nombre de recherches qui, je dois le dire dès maintenant, ont toutes abouti à un résultat négatif : je n'ai jamais pu déceler le mannose à l'état libre chez les végétaux.

La méthode de recherche est tellement simple qu'il suffit de l'indiquer dans sa marche générale. Le tissu à étudier, frais ou sec, est convenablement divisé et traité par quatre à cinq fois son poids d'alcool bouillant. Avec des organes secs, on peut employer de l'alcool à 80° ; avec des tissus frais, il convient d'utiliser de l'alcool à 90-95°, et de ne diviser le tissu qu'au moment de son immersion dans l'alcool bouillant de façon à détruire immédiatement les ferments solubles qui peuvent y être contenus. On fait ensuite bouillir quelque temps en adaptant au ballon un réfrigérant à reflux, on laisse refroidir et on filtre. Dans ces conditions, le mannose entre facilement en solution dans l'alcool. Le liquide est distillé ; on concentre le résidu à un petit volume de façon à chasser tout l'alcool ; puis on reprend l'extrait obtenu par une quantité convenable d'eau distillée. On filtre ; la solution filtrée, si elle contient du mannose, fournit avec l'acétate de phénylhydrazine un précipité caractéristique de mannosehydrazone.

J'ai traité de la manière qui vient d'être indiquée des graines de Légumineuses à albumen corné à l'état de repos, des graines de Légumineuses à albumen corné en germination, des tubercules d'Orchidées désséchés, des tubercules d'Orchidées à l'état frais. Tous ces essais ont été complètement négatifs au point de vue de la présence du mannose.

Je n'ai pas fait d'expériences parallèles relatives à la présence du galactose dans les organes de réserve renfermant des galactanes, la recherche de ce genre, en présence de ces derniers principes, présentant le plus souvent un grand degré d'incertitude, comme j'ai déjà eu l'occasion de le signaler précédemment. Je dois toutefois faire remarquer que la présence du galactose à l'état libre, chez les végétaux, n'a pas encore été démontrée.

En présence de ces résultats, il faut admettre que le mannose et le galactose, susceptibles de se produire dans la digestion des

Digitized by Google

mannanes et des galactanes par la séminase, subissent dans la plante vivante, au moment même de leur mise en liberté, des modifications immédiates qui les transforment en d'autres hydrates de carbone plus appropriés à une assimilation définitive. Ces nouveaux hydrates de carbone sont vraisemblablement des principes dont la nature chimique se rattache de près à celle des mannanes et des galactanes. Ce peut être, par exemple, du glucose, du lévulose, de l'amidon. Il y a dans nos connaissances sur ce point des lacunes que nous ne pouvons pas encore combler d'une façon satisfaisante.

On n'a pas encore répondu à la question de savoir ce que devenaient, dans l'utilisation des glucosides, le glucose qui en dérive et surtout les produits qui accompagnent toujours le glucose dans le dédoublement. De même, la disparition du tréhalose dans les Champignons et son remplacement par la mannite sont des phénomènes que l'observation constate, mais dont le mécanisme intime nous échappe complètement. Notre ignorance est malheureusement tout aussi grande sur les transformations que subissent les mannanes et les galactanes, postérieurement à leur saccharification, par la séminase, en mannose et en galactose.

CONCLUSIONS

Je ne reviendrai pas sur les diverses conclusions particulières qui ont été formulées antérieurement, après chaque série d'essais correspondants ; j'indiquerai seulement les idées générales qui se dégagent de l'ensemble du présent travail.

Les recherches que M. Bourquelot et moi avons publiées en 1899 et en 1900 sur le processus physiologique de l'utilisation des mannanes et des galactanes de réserve chez les végétaux, aboutissaient déjà à des résultats décisifs. Elles montraient qu'il était possible, sous l'influence d'un ferment soluble ou d'un ensemble de ferments solubles spéciaux, la séminase, de faire subir aux mannanes et aux galactanes contenues dans l'albumen corné de

Digitized by Google

certaines graines de Légumineuses, des transformations identiques à celles que réalise l'hydrolyse par les acides minéraux étendus et bouillants. Dès cette époque, nous avions, dans l'action des ferments solubles, obtenu du mannose cristallisé. La preuve définitive de la transformation des galactanes en galactose sous l'influence de la séminase, a été réalisée dans mes recherches, par l'obtention, à l'état cristallisé et pur, du galactose formé dans la réaction.

Je n'ai pas cru devoir rapporter tous les détails de l'étude chimique des matériaux sur lesquels ont porté mes expériences. Cette étude devait nécessairement précéder les recherches physiologiques consécutives, mais ses résultats seuls importent à la compréhension des faits que j'ai précédemment exposés.

J'ai réalisé la transformation des mannanes et des galactanes en mannose et en galactose, en utilisant des ferments solubles empruntés non seulement à des espèces différentes mais à des groupes végétaux aussi distincts que possible, Champignons, Légumineuses, Orchidées. Les produits de l'action fermentaire ont été isolés, caractérisés à l'état pur, et même obtenus avec de tels rendements, que certaines des méthodes que j'ai indiquées pourraient être suivies avec fruit pour la préparation du mannose. A ce point de vue je me suis toujours efforcé de réaliser des conditions expérimentales simples, faciles à répéter et en même temps fructueuses.

Les recherches sur la séminase dans les graines au repos, ainsi que celles sur la digestion des mannanes dans les tubercules d'Orchidées autorisent à penser que les mannanes et les galactanes sont bien saccharifiées en mannose et en galactose dans la plante vivante ; mais l'absence de ces derniers sucres nous amène à cette conclusion que le mannose et le galactose n'ont qu'une existence transitoire et qu'ils sont repris immédiatement par le travail de l'assimilation, subissant ainsi de nouvelles modifications qui n'ont pas encore pu être suivies.

J'ai dû me borner seulement à l'étude physiologique de certaines mannanes et de certaines galactanes ; les conclusions relatives à l'action des ferments sur de tels hydrates de carbone ne peuvent donc expressément s'appliquer qu'à ceux qui ont été spécialement étudiés à ce point de vue.

Digitized by Google

On ne saurait faire digérer toutes les mannanes et toutes les galactanes du règne végétal par la séminase des graines de Luzerne. Quoique le processus d'utilisation nous apparaisse bien comme étant partout le même, il faut cependant admettre une diversité de ferments correspondant à la diversité de propriétés de la matière à digérer. La séminase des Légumineuses, qui saccharifie non seulement les hydrates de carbone contenus dans les albumens des graines de cette famille, mais aussi les mannanes des tubercules d'Orchidées, n'agit pas sur les hydrates de carbone de l'albumen des Palmiers, bien que ce dernier donne aussi du mannose à l'hydrolyse ; mais nous ne devons pas être plus surpris de ce fait que de voir la diastase de l'Orge saccharifier l'amidon et rester inactive sur la cellulose.

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX

DE PHYSIOLOGIE ET DE CHIMIE

VÉGÉTALES

PARUS DE 1893 à 1900 (*Suite*)

Les rameaux rampants ne présentent pas seulement du géotropisme ; ils présentent aussi ce qu'on appelle maintenant des *nasties*, c'est-à-dire des courbures produites sous l'action des facteurs extérieurs, lesquelles n'ont pas pour effet d'orienter l'organe excité par rapport à l'agent excitateur.

De Vries et Sachs ont étudié l'*épinastie* chez un certain nombre de plantes; pour le premier de ces auteurs, l'épinastie serait due à des causes internes de croissance.

Czapeck (1) a d'abord pensé que l'épinastie des rameaux d'*Atropa Belladona* est purement géogène et celle des rameaux d'*Hedera Helix* géogène et photogène; ensuite il a attribué au géotropisme transversal certaines courbures qu'il considérait auparavant comme géoépinastiques; en outre les rameaux des deux plantes précédentes seraient doués de photoépinastie.

Selon Maige la cause de la reptation est bien le géotropisme transversal. Les rameaux rampants possèdent un héliotropisme soit positif (*Hieracium Pilosella*, *Lysimachia Nummularia*), soit négatif (*Glechoma hederacea*, *Potentilla reptans*); certains d'entre eux (*Glechoma hederacea*, *Potentilla reptans*) possèdent, au stade dressé ou oblique, un héliotropisme positif; l'adaptation à la reptation entraîne donc chez les plantes un changement de la sensibilité héliotropique.

Les rameaux rampants possèdent une géoépinastie qui détermine une convexité plus ou moins grande du rameau; cette géoépinastie est plus accentuée à la lumière directe qu'à la lumière diffuse.

Quand un rameau dressé se transforme en rameau rampant, il passe par une série de positions obliques à chacune desquelles correspond une sensibilité géotropique oblique déterminée.

La lumière directe (*Stachys silvatica*) et l'obscurité (*Glechoma hederacea*, *Potentilla reptans*) produisent en agissant sur des rameaux à géotropisme oblique ou transversal, une variation de la sensibilité

(1) Czapeck : *Weitere Beitrage zur Kenntniss der geotropischen Reizb ewgungen* (Jahrb. t. wiss. Bot., 1898).

Digitized by Google

géotropique, et le retour à un géotropisme plus voisin du géotropisme négatif.

Deux rameaux horizontaux différemment adaptés d'une même plante sont différents au point de vue géotropique, le moins adapté est plus sensible à l'action de la lumière directe et de l'obscurité. Les rameaux obliques se comportent comme les rameaux horizontaux peu adaptés.

La lumière diffuse en agissant sur des rameaux à géotropisme négatif peut les transformer en rameaux à géotropisme transversal ; cette transformation s'accomplit en passant par des stades géotropiques identiques à ceux qui se produisent dans la transformation naturelle des tiges dressées en tiges rampantes.

Dans le même ordre d'idées, Vöchting (1) a observé que chez certaines plantes, les rameaux végétatifs sont d'abord rampants, puis ils se redressent et fleurissent. Mais si, chez ces plantes, une certaine température et une certaine intensité lumineuse ne sont pas réalisées, la modification ne se produit pas et le végétal conserve sa direction primitive et ne fleurit point.

Selon Wiesner (2), des plantes appartenant à des familles très diverses (*Reseda, Impatiens, Tropæolum, Ipomæa*) peuvent se développer complètement, fleurir et donner des graines à la lumière diffuse seule ; seul le *Sedum acre*, plante des stations ensoleillées, n'arrive pas à floraison dans les cultures exposées au nord ; mais cela tient peut-être à ce que la quantité de lumière diffuse reçue n'est pas suffisante.

On sait depuis longtemps que les couches ligneuses des arbres ne sont pas uniformément épaisses. En 1854, Carl Schimper montra que dans celles qui sont inclinées sur l'horizon il y a une *dorsiventralité* qui se traduit par un plus grand développement du bois vers le haut (*épinastie*) ou vers le bas (*hyponastie*). Mais Wiesner (3) a substitué aux mots précédents qui ont une autre acception, ceux d'*épitrophie* et d'*hypotrophie* ; il a montré en outre que chez les Conifères le bois est plus développé en bas ; c'est l'inverse chez les Dicotylédones, quand le rameau est jeune, mais plus tard l'épitrophie fait place à l'hypotrophie. De plus, les feuilles portées sur un rameau incliné ou *plagiotrope* présentent des différences de dimensions suivant qu'elles sont insérées en haut ou en bas (*anisophyllie*). Quant aux inflorescences, leurs branches nées du côté extérieur sont souvent plus développées que celles qui sont nées du côté de l'axe général (*exotrophie*). Enfin, il y a des trophies spontanées et des trophies acquises.

De nombreux auteurs ont mis en évidence l'influence de la lumière sur les phénomènes précédents. On est moins avancé en ce qui concerne l'action de la pesanteur. Ce dernier facteur agit certainement sur

(1) Vöchting : Ber. d. deut. Bot. Gesell. XVI, 37.

(2) Wiesner : *Influence de la lumière solaire diffuse sur le développement des plantes.* (C-R. CXXVI. 1287).

(3) Wiesner : Ber. d. deut. Bot. Gesell. Bd. XIII, 1895.

Digitized by Google

l'anisophyllie. Suivant certains expérimentateurs, il agirait sur l'hétérotrophie en modifiant la tension interne des tissus ; d'autres ne peuvent mettre en évidence l'action de ce facteur.

Ricôme (1) a montré que l'organisation dorsiventrale existe dans un grand nombre de rameaux d'inflorescence orientés obliquement dans l'espace. La dorsiventralité peut être profondément modifiée et même renversée par un changement dans les conditions d'éclairement et dans les conditions mécaniques. L'action de la radiation solaire et celle de la pesanteur en provoquent l'apparition dans des rameaux de structure normalement radiaire.

La radiation solaire fait apparaître une face de lumière et une face d'ombre. La pesanteur détermine la formation d'une face du haut et d'une face du bas. C'est de la coïncidence de la face de la lumière avec la face du haut, d'une part ; de la face d'ombre avec la face du bas, d'autre part, que paraît résulter l'organisation dorsiventrale.

La dorsiventralité observée dans les rameaux d'inflorescence inclinés, semble devoir être considérée comme une organisation radiaire, déformée par l'influence de la radiation solaire et de la pesanteur. Toutefois, d'autres facteurs peuvent intervenir dans le phénomène, notamment la structure de la tige mère, la compression et l'hérédité.

Chez la Courge (*Cucurbita Pepo*), selon Czapeck (2) l'axe hypocotylé éclairé d'un seul côté devient dorsiventral par apparition de racines sur la face obscure; quant à l'épicotyle il est couché, plagiotrope, par suite d'une courbure brusque au dessus des cotylédons ; la courbure est produite par la lumière. C'est également la lumière qui fait que chez certains *Alstrœmeria*, les feuilles sont retournées et portent leurs stomates sur la face morphologiquement supérieure, qui alors regarde le bas.

Rimbach (3) a consacré un important travail à la question des *plissements endodermiques* de la racine. Selon Schwendener, ces plissements seraient dus à la diminution de la turgescence causée par le sectionnement des racines. Selon Van Wisselingh, ces plissements existeraient bien sur les tissus vivants. C'est aussi l'opinion de Rimbach.

On sait que les racines des plantes se raccourcissent lorsque la croissance en longueur a cessé. Rimbach a constaté que des plantules de *Gladiolus communis* se sont enfoncées, par suite de la contraction des racines, de 3 à 4 centimètres, en 7 mois ; l'enfoncement a été de 12 à 15 millimètres en 3 mois avec l'*Agave americana*. Chez l'*Elisena ringens*, les racines se sont raccourcies en 24 heures de $\frac{1}{5}$ de millimètre sur 10 millimètres de longueur.

(1) Ricôme : *Recherches expérimentales sur la symétrie des rameaux floraux* (Ann. Sc nat. Bot., 8e série, VII, p. 294). Thèse de Doctorat : Paris, 1899.

(2) Czapeck : *Studien ueber die Wirkung äusserer Reizkräfte auf die Pflanzengestalt* (Flora, LXXXV, 424).

(3) Rimbach : Ber. d. deut. Bot. Gesell. XI. 25. 1893.

Digitized by Google

Si l'on sépare l'écorce du cylindre central on voit que l'écorce continue encore à se raccourcir tandis que le cylindre central s'allonge sans toutefois reprendre entièrement la longueur primitive. Il en résulte qu'en coupe longitudinale les plissements (s'ils étaient dus à la technique microscopique) devraient plutôt disparaître, l'endoderme étant intimement accolé au cylindre central et s'allongeant avec lui.

Le raccourcissement se produit vers la base de la racine ; enfin, il n'a pas lieu dans toutes les racines ; il manque par exemple chez les Graminées les Palmiers, les Broméliacées, chez le Colchique d'automne, etc. Les racines qui ne se raccourcissent pas n'ont jamais de plissements et c'est bien le raccourcissement qui produit ces derniers.

D'autre part la plasmolyse, qui diminue la pression intracellulaire fait apparaître des plissements. Le raccourcissement est donc dû probablement à la disparition de la turgescence dans les régions où la phase de croissance est terminée.

Dans ses recherches sur la *croissance*, Godlewski (1) montre qu'il y a deux maxima et deux minima par jour au lieu d'un comme on l'enseignait depuis Sachs. Les minima ont lieu le soir et le matin, les maxima le jour et la nuit. Il est vrai que certaines plantes, selon l'époque de l'année, ont une périodicité de croissance simple ou double.

La périodicité n'existe pour ainsi dire pas chez les plantes étiolées.

Les variations brusques de l'état hygrométrique exercent une influence très marquée, mais de courte durée ; cette influence est due à des changements brusques de la pression interne. Toutefois l'humidité active la croissance.

La lumière, au contraire, la retarde. Le passage brusque de l'obscurité à la lumière diminue, pendant quelque temps seulement, la vitesse d'accroissement.

Les sautes de température augmentent cette vitesse.

Mais quel est le mécanisme de la croissance ? On sait que selon De Vries et Wortmann, la croissance des cellules est proportionnelle à la pression interne et à l'extensibilité de la membrane. Pour Schwendener et Krabbe (2) cette proportionnalité n'existe pas ; la turgescence est quelquefois sans influence sur l'accroissement en longueur. Godlewski ne partage pas non plus l'opinion des premiers auteurs ; du reste la membrane est élastique et ne peut s'allonger au delà d'une certaine limite ainsi que l'a déjà constaté Pfeffer ; il est en outre probable que la membrane étendue au maximum par la pression interne devient le siège de modifications moléculaires qui modifient son élasticité, qui la renouvellent en quelque sorte.

L'allongement mesuré pendant la période qui correspond au maxi-

(1) Godlewski : Abhand. d. Krak. Akad. d. Wissen. Math. naturw. Bd. XXIII, 1893.

(2) Schwendener et Krabbe : Pringsheim's Jahrb. XXV, 1893.

Digitized by Google

mum de croissance ne concorde nullement avec le maximum de pression interne.

Dans ces dernières années, de nombreux et importants travaux ont été effectués pour essayer de pénétrer le mécanisme des *géotropiques phototropiques* qui se passent chez les végétaux.

Rothert (1) a opéré sur des plantules de Graminées. Les unes étaient ou entièrement éclairées ou complètement dans l'obscurité, les autres avaient le sommet ou une région protégés centre la lumière par une petite coiffe ou un petit manchon en papier ou en étain. L'auteur a pu constater que la partie qui est au-dessous du sommet peut se courber sous l'influence de la lumière ; mais quand la radiation frappe le sommet, la courbure est plus accentuée ; le sommet (sur une longueur de 1 millim. 1/2 environ) est donc plus fortement héliotropique que la région qui est au-dessous.

L'excitation héliotropique se propage du sommet vers la base ; cette excitation engendre une courbure plus marquée que celle qui se produit dans la région basilaire sous l'influence de la sensibilité propre de cette région.

L'excitation chemine par le parenchyme général de la plante et non par les faisceaux libéro-ligneux. Dans certains cas, l'excitation a paru cheminer dans les tissus avec une vitesse de 2 centimètres par heure (*Brodiæa congesta*).

La sensibilité héliotropique, très marquée au sommet chez les Graminées, mais existant encore plus bas, contrairement à ce que croyait Darwin, est uniformément répartie chez la Capucine. La Carotte serait, sous ce rapport, intermédiaire à l'Avoine et à la Capucine.

Un organe peut se courber sous l'influence d'une excitation lumineuse transmise par un autre organe sans pour cela se courber sous l'influence d'une excitation lumineuse directe ; c'est ce qui a lieu, par exemple, chez les Panicées. La faculté de courbure est proportionnelle à l'activité de la croissance et à l'excitabilité héliotropique ; elle est inversement proportionnelle à l'épaississement des organes.

L'auteur a en outre vérifié, puis expliqué ce fait observé autrefois par Wiesner, à savoir que la région de croissance maximum ne coïncide pas toujours avec celle où la faculté de courbure est le plus développée ; c'est qu'en effet la concordance est impossible quand la sensibilité héliotropique varie suivant les différents points d'un même organe.

(1) Rothert : *Ueber Heliotropismus* (Beiträge zur Biologie der Pflanzen ; VII, 1894).

(A suivre). Ed. Griffon.

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX

DE

PALÉONTOLOGIE VÉGÉTALE

PUBLIÉS DANS LE COURS DES ANNÉES 1897-1900

par M. R. ZEILLER (*Fin*).

Les couches à lignites de l'île de Mételin, appartenant au Miocène supérieur, ont fourni à M. de Launay des bois fossiles, parmi lesquels M. Fliche (1) a reconnu des Conifères des genres *Cedroxylon* et *Pityoxylon*, un *Palmoxylon* correspondant peut-être à un *Sabal* ou à un *Champærops*, et une Ebénacée, probablement un *Diospyros*.

Nos connaissances, encore très imparfaites, sur la flore tertiaire de Russie, se sont enrichies de quelques observations de M. Pawloff (2), qui a recueilli, dans l'Eocène du Gouvernement de Saratow, une flore très analogue à celle de Sézanne et de Gelinden, probablement d'âge un peu postérieur à cette dernière.

Remontant de là aux régions arctiques, je mentionnerai les observations de M. Renault (3) sur la flore tertiaire d'Advent Bay, au Spitzberg, dans laquelle il a constaté la présence d'une nouvelle espèce d'*Equisetum*, *Eq. Grimaldii*, comparable par la taille à l'*Eq. giganteum;* celles de MM. Vanhöffen et Engelhardt (4) sur la flore tertiaire d'Atanikerdluk et de Kardlunguak, au Groënland, qui leur a fourni une forme spécifique nouvelle de gousse de Légumineuse ; et enfin celles de M. Knowlton (5) sur la flore fossile de l'Alaska, dans laquelle, sans parler de la florule néocomienne du cap Lisburne étudiée par Lesquereux, il a dénombré un total de 102 espèces, et qu'il regarde, conformément à ce que l'on admet aujourd'hui pour les autres flores arctiques

(1) P. Fliche : Note sur les bois fossiles de Mételin (*Ann. des Mines*, 1er vol. 1898, p. 293-303).

(2) A. Pawloff : Ueber die Tertiärbildungen in dem Gouvernement Simbirsk und Saratow (*Botan. Centralbl.*, LXIX, p. 315-316 ; 1897).

(3) B. Renault : Plantes fossiles miocènes d'Advent Bay (Spitzberg) (*Bull. Mus. hist. nat.*, 1900. p. 320-323).

(4) E. Vanhöffen und H. Engelhardt : Die fossile Flora (*in* E. v. Drygalski, Grönland-Expedition, II, 1. Thl., p. 358-373, fig. 27-30; 1897).

(5) F.-H. Knowlton : Report on the fossil plants collected in Alaska (17th. *Ann. Rep. U. S. Geol. Surv.*, pt. I, p. 876-897 ; 1897) ; Report on a collection of fossil plants from the Yukon River, Alaska (18th. *Ann. Rep. U. S. Geol. Surv.*, pt. III, p. 194-196 ; 1898).

Digitized by Google

similaires classées tout d'abord par Heer dans le Miocène, comme devant être rapportée à un âge plus ancien, probablement à l'Eocène supérieur; il a reconnu toutefois, sur un point, des cônes de *Pinus Mac-Clurii* qui semblent indiquer un gisement pliocène ou peut-être miocène supérieur.

Aux Etats-Unis, M. Hollick a étudié la flore des argiles et grès de Shreveport et Coushatta dans la Louisiane (1), dans laquelle il a observé, avec quelques espèces nouvelles appartenant, entr'autres, aux genres *Quercus*, *Artocarpus*, *Ficus*, *Cryptocarya*, *Apocynophyllum*, une série de types spécifiques, notamment un *Cinnamomum* de Sézanne et de Gelinden, qui le conduisent à la rapporter au Tertiaire inférieur.

La riche flore de Florissant, dans le Colorado, qui appartient au groupe américain de Green River, correspondant à peu près à l'Eocène moyen ou supérieur, a fait l'objet de nouvelles observations de la part de M. Kirchner (2), qui, sur un total de 226 espèces, fait connaître 13 formes spécifiques nouvelles, notamment une Mousse du genre *Hypnum*, un Pin à trois feuilles, deux *Acer*, et deux fleurs d'attribution un peu incertaine malgré leur belle conservation, rappelant, l'une les Onagracées et l'autre les Convolvulacées.

M. Knowlton a publié, sur les flores fossiles du Parc National de la Yellowstone (3), les observations dont il avait donné en 1896 un premier aperçu et qui, abstraction faite de la flore du Crétacé tout à fait supérieur dont il a été parlé plus haut, lui ont fourni un total de 150 espèces, dont 81 n'avaient pas encore été décrites; ces dernières comprennent notamment, pour ne citer que les genres les plus richement représentés, des *Asplenium*, des *Equisetum* des *Pinus*, des *Quercus*, des *Ficus*, des *Magnolia*, des *Acacia*. La flore de l'horizon le plus inférieur, correspondant aux tufs qui accompagnent les laves acides, se rapproche surtout de la flore du groupe de Fort Union, dans le Laramie supérieur, et cet horizon peut être ainsi classé dans l'Eocène inférieur. Les tufs de la série basique de la Lamar River, qui constituent l'horizon le plus élevé, renferment une flore beaucoup plus récente, comparable surtout à celle des graviers aurifères de Californie, dont la constitution conduit à les rapporter au Miocène supérieur. Entre ces deux termes extrêmes s'échelonnent d'autres coulées de tufs, renfermant, naturellement, une flore intermédiaire, mais plus rapprochée cependant de la flore de la série basique que de la série acide, et d'affinités surtout miocènes. C'est dans la série supérieure que se trouve comprise la « forêt fossile » bien connue du Parc National, avec un grand nombre de troncs encore

(1) A. Hollick : A report on a collection of fossil plants from North-Western Louisiana (*Rep. Geol. Surv. Louisiana* 1899, p. 276-288, pl. 32-48; 1900).

(2) W.-C.-G. Kirchner : Contributions to the fossil Flora of Florissant, Colorado (*Trans. Acad sc. St-Louis*, VIII, p. 161-188, pl. XI-XV; 1898)

(3) F.-H. Knowlton : Fossil Flora of the Yellowstone National Park (*Monogr. U. S. Geol. Surv.*, XXXII, pt. II, p. 651-882, pl. LXXVII-CXXI; 1899).

Digitized by Google

debout, notamment des *Sequoia*, dont les tronçons atteignent une dizaine de mètres de hauteur et jusqu'à 3 mètres de diamètre; outre les formes spécifiques déjà décrites par M. Felix, M. Knowlton a reconnu dans ces bois un *Sequoia*, deux *Pityoxylon*, un *Quercinium* et un *Laurinoxylon* nouveaux.

Le même auteur a étudié la flore des dépôts lacustres de l'Idaho compris sous la désignation de *Payette Formation* (1), et y a reconnu 32 espèces, dont la moitié étaient nouvelles, principalement des *Myrica*, des *Populus*, des *Quercus* et des fruits de *Trapa*. Cette flore se montre, dans son ensemble, assimilable à la flore miocène supérieure, tant par les espèces qu'elle possède en commun avec les flores d'autres localités que par les affinités de plusieurs des formes nouvelles qu'elle renferme avec divers types du Miocène supérieur, notamment de la série de Lamar du Parc National de la Yellowstone.

M. Knowlton a encore observé une autre flore nettement miocène dans les couches à empreintes associées aux roches volcaniques de la Chaîne des Cascades (2), dans l'Ouest de l'Orégon; une fraction importante des espèces reconnues sont nouvelles, notamment un *Acrostichum*, des *Quercus*, un *Ulmus*, et des Laurinées des genres *Cinnamomum*, *Benzoin* et *Laurus*; plusieurs de ces espèces semblent surtout voisines de certaines de leurs congénères des graviers aurifères de Californie. Parmi ces graviers aurifères, le gisement d'Independence Hill, avec les tufs rhyolitiques qui s'y trouvent compris, a fourni à MM. Lindgren et Knowlton (3) un total de 56 espèces, dont quelques-unes nouvelles, entr'autres un *Arisæmites*, un *Castanea*, un *Ulmus*, et un *Æsculus*; cette flore paraît devoir être, comme celle des autres gisements similaires de la même région, rapportée au Miocène supérieur.

C'est peut-être à ce même niveau, mais plus probablement au Pliocène, qu'il faut, d'après M. Knowlton, attribuer la florule des tufs rhyolitiques de San Pablo (4), en Californie, dont il a donné la composition, en complétant par ses propres observations celles de Lesquereux.

Il y a également doute entre le Miocène et le Pliocène pour le classement des graviers jaunes de Bridgeton dans le New Jersey et de Clifton dans la Staten Island, qui, présumés d'abord quaternaires, sont aujourd'hui rapportés au Tertiaire et qui ont fourni à M. Hollick (5), d'une

(1) F.-H. Knowlton : The fossil plants of the Payette Formation (18th. *Ann. Rep. U.S. Geol. Surv.*, pt. III, p. 721-744, pl. XCIX-CII ; 1898).

(2) F. H. Knowlton : The fossil plants associated with the lavas of the Cascade Range (20 th. *Ann. Rep. U. S. Geol. Surv.*, pt. III, p. 37-64, pl. I-VI ; 1900).

(3) W. Lindgren : Age of the auriferous gravels of the Sierra Nevada. With a report on the flora of Independence Hill, by F. H. Knowlton (*Journ. of Geol.*, IV, p. 881-906 ; 1897).

(4) F.-H. Knowlton : Fossil plants from San Pablo Formation, California (*Journ. of Geol.*, IV, p. 498 ; 1898).

(5) A. Hollick : A new fossil Grass from Staten Island (*Bull. Torrey bot. Club*, XXIV, p. 122-124, pl. 298 ; 1897) ; A new fossil Monocotyledon from the Yellow Gravel at Bridgeton, N. J. (*ibid.*, XXIV, p. 329-331, pl. 311-313, 1897).

Digitized by Google

part des lambeaux de feuilles de Palmier, classés comme *Anomalophyllites*, d'autre part des fragments de tiges et de rhizomes de *Phragmites*.

J'ai cité plus haut le travail posthume de M. Newberry (1) sur les flores crétacée et tertiaire de l'Amérique du Nord, qui comprend, pour le Tertiaire, la description de 109 espèces, sur lesquelles une est nouvelle, un *Magnolia*, et 41 autres n'avaient été que décrites sans être figurées. Je mentionnerai, comme paraissant digne de fixer l'attention, la présence, dans l'Éocène du groupe de Fort Union, de formes assimilables à des formes vivantes, *Onoclea sensibilis*, *Corylus americana*, *Cor. rostrata*, ainsi que de deux espèces de *Cabomba*, l'auteur rapportant à ce genre, comme feuilles submergées, divisées en étroites lanières, des empreintes décrites antérieurement comme des racines aquatiques. Le Miocène de l'Orégon fournit en outre deux types spécifiques intéressants, un *Equisetum* à tige de 3 cm. de largeur, et une espèce encore vivante aujourd'hui, *Alnus serrulata*.

Dans la région des Antilles, les dépôts tertiaires à végétaux siliciflés de l'île d'Antigua ont fourni à M. Stenzel (2), d'une part une espèce nouvelle de *Rhizocaulon*, d'autre part une base de tronc de Palmier avec quelques racines, dont la structure rappelle beaucoup celle du genre vivant *Iriartea*.

A l'extrémité méridionale du continent sud-américain, M. Dusén (3) a exploré les couches à plantes, probablement oligocènes, de la Terre de Feu et du sud-ouest de la Patagonie ; il n'y a guère observé que des formes spécifiques nouvelles, notamment un *Araucaria* du type *Colymbea*, une feuille rappelant les *Saxegothæa* et classée comme *Saxegothopsis*, quelques *Fagus* du groupe *Eufagus*, dont l'un rappelant beaucoup le *F. ferruginea*, de très nombreux *Nothofagus*, et diverses espèces classées comme *Hydrangeiphyllum*, *Myrtiphyllum*, *Rhoophyllum*, *Embothriophyllum* et *Berberidiphyllum*; les types de l'hémisphère austral y sont nettement prédominants, mais accompagnés cependant de quelques types de notre hémisphère, tels que les *Eufagus*.

De la région sud-asiatique, M. Warburg (4) a décrit deux fruits fossiles trouvés dans l'île de Bangka, qu'il rapporte aux Anacardiacées et aux Anonacées, sous les noms génériques respectifs de *Spondiocarpus* et de *Monodorospermum*; l'impossibilité d'une identification avec des types

(1) J.-S. Newberry : The later extinct Floras of North America (*Monogr. U. S. Geol. Surv.*, XXXV ; 1898).

(2) K.-G. Stenzel : *Rhizocaulon antiguense* nov. sp. (*Mitteil. aus d. k. min.-geol. u. prähist. Mus. in Dresden*, XIII. Heft, p. 21-25, pl. III ; 1897); *Palmoxylon iriarteum* n. sp., ein fossiles Palmenholz aus Antigua (*Bihang till k. Svenska Vet. Akad. Handl.*, XXII, N° 11, 18 p., 2 pl.; 1897).

(3) P. Dusén : Ueber die tertiäre Flora der Magellansländer (*Svenska Exped. till Magellansländerna*, I, p. 87-107, pl. VIII-XIII ; 1899).

(4) O. Warburg : Zwei neue fossile Phanerogamen-Gattungen von der Insel Bangka (*Jaarb. v. het Mijnwez. in Nederl. Oost. Indië*, XXVI, p. 229-234, pl. IV ; 1897).

Digitized by Google

vivants de la région le porte à penser qu'il s'agit là de formes tertiaires plutôt que quaternaires, et probablement pliocènes, l'état de conservation faisant présumer d'autre part une époque relativement récente.

M. Laurent (1) a fait connaître, du Tertiaire du sud-est de l'Asie, deux espèces nouvelles, une Quercinée du genre ou sous-genre *Pasania*, du gisement de Ma-Pé-Kaï, dans la Chine méridionale, et un *Litsæa* du gisement de Yen-Baï, au Tonkin, sur le haut Fleuve Rouge ; j'ai moi-même (2) donné quelques détails complémentaires sur la composition de la flore de ce dernier gisement, qui me paraît, tant par ses affinités propres que d'après les fossiles animaux qui lui sont associés, devoir être rapportée au Tertiaire moyen ou supérieur.

En Australie, enfin, M. Dun (3) a donné les listes des espèces observées par lui dans quelques gisements tertiaires de la Nouvelle-Galles du Sud, et M. Deane (4), se livrant à un examen d'ensemble de la flore tertiaire australienne, a critiqué, non sans fondement, la théorie soutenue par C. von Ettingshausen de l'uniformité générale de la flore tertiaire, en faisant remarquer les doutes qui planent, tant sur la détermination de la plupart des types tertiaires européens assimilés à des types australiens actuels, que sur la détermination de nombre d'empreintes du Tertiaire d'Australie rapprochées un peu arbitrairement par Ettingshausen de nos types européens ou nord-américains. Il estime qu'une bonne partie de ces empreintes du Tertiaire d'Australie pourraient être avec plus de raison rapportées à des types de la flore actuelle de la même région, admettant cependant que la flore a dû se modifier très sensiblement depuis l'époque tertiaire, ainsi que tend à le prouver l'impossibilité où s'est trouvé le Baron de Mueller, pour les fruits du Pliocène de Victoria et de la Nouvelle-Galles du Sud étudiés par lui, de les rapporter à aucune forme vivante.

Il serait assurément fort désirable, pour élucider cette question des origines de la flore australienne actuelle, que l'étude des flores tertiaires et crétacées d'Australie et de Nouvelle-Zélande pût être reprise sur des matériaux meilleurs et plus nombreux, et sans idées préconçues, par des paléobotanistes familiers avec la flore vivante de ces mêmes régions.

(1) L. Laurent : Note à propos de quelques plantes fossiles du Tonkin (*Ann. Faculté d. sc. de Marseille*, X, p. 145-151, 3 fig.; 1900).

(2) R. Zeiller : Note sur la flore fossile du Tonkin (*Congrès géol. intern., France* 1900, p. 165 ; p. 498-501).

(3) W.-S. Dun : Annual Report of the Assistant Palæontologist (*Ann. Rep. Dep. Mines N. S. W.*, 1898, p. 189-192).

(4) H. Deane : Observations on the tertiary flora of Australia, with special reference to Ettingshausen's theory of the tertiary cosmopolitan flora (*Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, XXV., p. 463-475 ; 1900).

Digitized by Google

C. — *Période Quaternaire.*

La végétation de la période quaternaire a fait l'objet de recherches nombreuses et détaillées, principalement en Allemagne et en Scandinavie, portant sur la composition des flores qui se sont succédé depuis la fin de la période tertiaire, et sur les oscillations climatériques que révèle leur étude. Ces recherches n'ont fait, d'ailleurs, que confirmer les résultats généraux précédemment acquis, et comme ceux-ci ont été exposés avec quelque détail dans le précédent compte-rendu, je me bornerai à une revue rapide des travaux de ces quatre dernières années, en m'efforçant de faire ressortir seulement les observations qui présentent quelque caractère de nouveauté.

M. Fliche a donné un résumé général de ses études sur la flore quaternaire du nord-est de la France (1), qui comprend au début, dans les lignites de Jarville et de Bois-l'Abbé, des types végétaux de régions froides, *Larix europæa*, *Pinus montana*, *Alnus viridis*. Plus haut, les tufs de Mousson, de Resson, de la Sauvage et de la Perle offrent une flore qui dénote un climat plus humide et plus chaud et surtout plus uniforme que le climat actuel de la région, renfermant des espèces qui n'existent plus aujourd'hui dans le pays, telles que le Buis, le Figuier et l'Arbre de Judée. Vers la fin de la période à *Elephas primigenius*, le climat s'est refroidi de nouveau, et l'on trouve à Lasnez, près de Nancy, des Mousses des régions septentrionales accompagnées du *Pinus silvestris* et du *Salix nigricans ;* ce climat froid paraît avoir duré jusqu'à la fin de la période de la pierre polie.

M. Fliche a constaté également la présence du Pin sylvestre (2) dans les graviers quaternaires à *Elephas primigenius* de Clérey aux environs de Troyes ; coordonnant les observations faites sur cette espèce, il montre qu'elle a paru en Europe vers la fin du Pliocène, notamment en Angleterre, qu'elle est ensuite descendue, grâce au refroidissement glaciaire, jusque dans le sud de l'Italie, pour remonter ensuite vers le nord ; en France elle a dû, vers la fin de la période de la pierre polie, abandonner les régions basses pour se réfugier dans les montagnes.

Le même auteur (3) a observé dans les tufs du Brabant, près de Rambervillers, dans les Vosges, une forme remarquable de Noisetier, à feuilles étroites, à nervures latérales dressées, qu'on eût été tenté de regarder comme une variété éteinte, mais qu'il a retrouvée vivante dans quelques stations humides et qui prouve une fois de plus la

(1) P. Fliche : Note sur la flore des lignites, des tufs et des tourbes quaternaires ou actuels du Nord-Est de la France (*Bull. Soc. Géol. Fr.*, XXV, p. 959-963 ; 1898).

(2) P. Fliche : Le Pin sylvestre (*Pinus silvestris* L.) dans les terrains quaternaires de Clérey (*Mém. soc. Acad de l'Aube*, LXIII, 31 p., 1 pl.; 1900).

(3) P. Fliche : Note sur les tufs du Brabant (Vosges) et sur les variations du Noisetier commun (*Corylus avellana* L.). Nancy. In 8°, 8 p., 1 pl.; 1898).

Digitized by Google

variabilité des types spécifiques même les plus constants en apparence.

Enfin M. Fliche a montré (1), en mettant à profit les enseignements fournis par l'étude de la flore fossile, que les essences forestières qui sont aujourd'hui maitresses de notre sol sont presque exclusivement de nouvelles venues, arrivées vers la fin de la période tertiaire ou au cours de la période quaternaire, et contre lesquelles ne réussissent pas à lutter les formes plus anciennes éliminées depuis plus ou moins longtemps de notre pays, lorsqu'on cherche à les y réintroduire et à les naturaliser à nouveau.

M. Rivière (2) a exploré, dans la Dordogne, les tufs quaternaires du bois de la Mouthe, et y a recueilli quelques empreintes de feuilles assez fragmentaires, que M. Renault rapporte, les unes à des espèces du Miocène arctique, les autres à des *Cocculus* du Pliocène de Meximieux ; la présence de formes aussi anciennes dans un dépôt quaternaire constituerait, si elle était mieux établie, un fait digne de fixer l'attention ; mais peut-être des échantillons plus complets pourront-ils conduire à reviser ces déterminations.

En Italie, M. Clerici (3) a continué ses recherches sur la flore quaternaire des environs de Rome, et n'a observé, dans les travertins des Monti Parioli comme dans les tufs granulaires de Decima et de Bravetta, que des espèces vivant encore dans le pays.

MM. Baltzer et Fischer (4) ont exploré à nouveau, au pied méridional des Alpes, les dépôts interglaciaires de Pianico-Sellere, au bord du lac d'Iseo, et y ont retrouvé, sur un niveau un peu inférieur à celui qui avait été primitivement étudié, de nombreuses feuilles de *Rhododendron ponticum*, accompagnées de cônes de *Pinus peuce* et de feuilles de Châtaignier ainsi que de *Populus nigra*.

Je mentionnerai d'abord, pour l'Allemagne, la découverte, par MM. Beck et Weber (5), dans l'Erzgebirge de la Saxe, d'un gisement interglaciaire, ou plutôt peut-être préglaciaire, à flore assez peu diffé-

(1) P. Fliche : Les naturalisations forestières en France et la paléontologie. Besançon. In-8°, 16 p.; 1898.

(2) E. Rivière : Les tufs de la Gaubert (Dordogne) (*Ass. franç. av. d. sci.*, 27e sess., Nantes, II, p. 332-336, 4 fig.; 1899).

(3) E. Clerici : Sopra i terreni di Decima presso Roma (*Bull. Soc. Geol. Ital.*, XVI, p. 274-275 ; 1898) ; Complemento di osservazioni sui Monti Parioli presso Roma (*ibid.*, XVI, p. 336-368 ; 1898) ; Sulle sabbie di Bravetta presso Roma (*ibid.*, XIX, p. 722-727 ; 1900).

(4) A. Baltzer : Nachträge zum Interglacial von Pianico Sellere (*Neues Jahrb. f. Min.*, 1897, II, p. 101-105) ; — E. Fischer : Nachtrag zum Pflanzenverzeichniss des Interglacials von Pianico-Sellere (*ibid.*, p. 105-106).

(5) R. Beck und C. A. Weber : Ueber ein Torflager im älteren Diluvium des sächsischen Erzgebirges (*Zeitschr. deutsch geol. Ges.*, XLIX, p. 662-671 ; 1898). — C.-A. Weber : Ueber eine omorikaartige Fichte aus einer dem ältern Quartäre Sachsens angehörenden Moorbildung (*Engler's bot. Jahrb.*, XXIV, p. 510-540, pl. XI-XIII ; 1898).

Digitized by Google

rente de la flore actuelle des mêmes lieux, sauf l'absence du Chêne, de l'Aune et du Tilleul, mais remarquable par la présence de feuilles et de cônes d'un *Picea* voisin du *P. omorika* actuel des Balkans, que M. Weber, qui en a fait une étude approfondie, désigne sous le nom de *Picea omorikoides*.

Plus au Nord, le riche gisement interglaciaire de Klinge dans le Brandebourg a donné lieu à une nouvelle observation de M. Keilhack (1), qui, de même qu'il avait reconnu pour des fruits de *Stratiotes aloides* les énigmatiques *Folliculites* ou *Paradoxocarpus* de ce gisement, a pu identifier à l'*Hydrocharis morsus-ranæ* d'autres graines de Klinge, dont l'attribution était jusqu'ici demeurée également problématique.

M. Weber a étudié la flore de divers gisements tourbeux (2), soit de la Westphalie, soit de l'Allemagne du Nord, et a trouvé dans les plus anciens une flore interglaciaire plus ou moins analogue à celle de Klinge, bien que moins riche; dans les autres, de formation postglaciaire, il a pu distinguer des périodes successives, moins tranchées peut-être que celles qu'on a pu reconnaître en Scandinavie, mais correspondant à peu près à celles-ci, et il est amené à conclure que, dans le Nord-Ouest de l'Allemagne, au froid glaciaire ont succédé deux périodes relativement chaudes, suivies respectivement de deux périodes plus froides, dont la dernière va jusqu'à l'époque actuelle. Il a reconnu en même temps que, comme en Suède, l'Epicéa n'est arrivé qu'après le Pin et le Chêne, et qu'il s'est maintenu à l'état spontané avec le Pin jusqu'à une date très récente.

Il a, d'ailleurs, résumé dans un intéressant travail d'ensemble (3) les données acquises sur la végétation de la région moyenne de l'Europe, telle qu'on l'observe dans les différents gisements explorés, depuis les dépôts préglaciaires jusqu'à ceux de la troisième et dernière époque glaciaire; la flore des deux époques interglaciaires accuse, surtout celle de la seconde, un climat plus chaud que le climat actuel, et il semble que depuis lors quelques espèces, peut-être survivantes de la flore pliocène, aient disparu des régions qu'elles habitaient encore à ce moment.

(1) K. Keilhack : Ueber *Hydrocharis* (*Zeitschr. deutsch. geol. Ges.*, XLIX, p. 698 ; 1898).

(2) C. A. Weber : Ueber die Vegetation zweier Moore bei Sassenberg in Westfalen (*Abh. naturw. Ver. zu Bremen*, XIV, p. 305-321 ; 1897) ; Ein Beitrag zur Frage nach dem Endemismus der Föhre und Fichte in Nordwestdeutschland während der Neuzeit (*ibid.*, XIV, p 323-330; 1897) ; Untersuchung der Moor-und einiger anderen Schichtproben aus dem Bohrloche des Bremer Schlachthofes (*ibid.*, XIV, p. 475-482 ; 1898) ; Die ursprüngliche Vegetation und der Aufbau der nordwestdeutschen Hochmoore (*Weser Zeitung*, 4 febr. 1898). — W. Koert und C. Weber : Ueber ein neues interglaciales Torflager (*Jahrb. k. preuss. geol. Landesanst. f.* 1899, p. 185-194; 1900).

(3) C.-A. Weber : Versuch eines Ueberblickes über die Vegetation der Diluvialzeit in den mittleren Regionen Europas (*Naturwiss. Wochenschr.*, XIV, p. 525-528, p. 537-543 ; 1899).

Digitized by Google

En Danemark, M. Hartz a étudié (1) une série de dépôts à Diatomées, de calcaires d'eau douce et de tourbes, qu'il rapporte à la deuxième époque interglaciaire et qui lui ont offert une flore très analogue à celle des dépôts contemporains de l'Allemagne du Nord, renfermant notamment : *Picea excelsa*, *Pinus silvestris*, *Carpinus Betulus*, *Ilex aquifolium*, et, du moins à Brörup, *Stratiotes aloides* et *Brasenia purpurea*.

De nouvelles observations faites sur divers points de la Suède, particulièrement dans la presqu'île de Gotland, par MM. Kjellmark (2), Andersson (3), Hulth (4) et Olsson (5), ont confirmé la succession, depuis l'époque glaciaire, des oscillations climatériques reconnues par M. Blytt ainsi que des différentes flores définies par M. Andersson, *Dryas*, Bouleaux, Pins, Chêne, Hêtre, et Épicéa. Il n'est pas sans intérêt de mentionner la découverte qu'a faite M. Kjellmark, dans la tourbière de Gottersäter en Néricie, d'un vase en argile dans un dépôt de la période atlantique renfermant *Alnus glutinosa*, *Corylus avellana*, *Quercus pedunculata*, *Rhamnus Frangula*, *Tilia europæa*, et *Trapa natans* représenté surtout par la forme *lævigata*, relativement ancienne.

Les mêmes observations ont été également faites en Finlande par MM. Herlin (6) et Andersson (7), à cette différence près qu'on n'y a pas jusqu'ici retrouvé la flore des Bouleaux, et que la flore de l'Épicéa paraît avoir coexisté en partie avec celle du Chêne, le premier constituant déjà des forêts dans une partie de la Finlande alors que dans une autre le second formait encore l'essence dominante ; mais le parallélisme est complet pour la flore aquatique, la période des *Potamogeton* correspondant, comme en Suède, à la flore à *Dryas*, et étant suivie de la période des Nymphéacées, à laquelle succède la période du *Trapa* qui va jusqu'à la fin de la période du Chêne.

(1) N. Hartz : Danske Diatoméjord-Aflejringer (*Danmarks geol. Undersog.*, II R., Nr. 9, p 3-34, p. 75-78, pl. I ; 1899) ; Undersökningar af Sphagnummossar från den andra interglacialtiden i trakten af Brörup, Jylland (*Geol. Fören. Förhandl.*, XXII, p. 150 ; 1900).

(2) K. Kjellmark : Une trouvaille archéologique, faite dans une tourbière au nord de la Néricie (*Bull. geol. Inst. Upsala*, III, p. 14-26 ; 1897) ; Några Kalktuffer från Axberg i Nerike (*Geol. Fören. Förhandl.*, XIX, p 137-152 ; 1897) ; Om den forna förekomsten af *Trapa natans* i norra Nerike (*ibid.*, XXI, p. 651-674, pl. XXIV ; 1900).

(3) G. Andersson : Om en af Strandvall öfverlagrad Torfmosse på södra Gotland (*Geol. Fören. Förhandl.*, XXI, p. 533-535 ; 1899).

(4) J.-M. Hulth : Ueber einige Kalktuffe aus Westergötland (*Bull. geol. Inst. Upsala*, IV, p. 89-124, pl. IV ; 1899).

(5) P.-H. Olsson : En Trapa-förande torfmosse på Åland (*Geogr. Fören. Tidskr.*, 1900, 46 p., 3 fig., 1 carte).

(6) R. Herlin : Paläontologisk-växtgeografiska studier i norra Satakunta (*Geogr. Fören. i Finland Vet. Meddel.*, III, 100 p., 2 cartes ; 1896).

(7) G. Andersson : Studier öfver Finlands Torfmossar och fossila Qvartärflora (*Bull. Comm. Géol. de Finlande*, N° 8, 210 p., 4 pl. ; 1898).

Digitized by Google

En Courlande, M. E. von Toll (1) a observé à Tittelmünde une flore comprenant de nombreux types de la flore à *Dryas*, notamment *Salix polaris*, *Potamogeton filiformis*, *Polygonum viviparum*, *Dryas octopetala*, mais accompagnés de *Salix phylicifolia*, *Betula nana*, *Bet. nana* × *odorata*, qui semblent indiquer un passage vers la flore des Bouleaux.

M. Cl. Reid (2) a poursuivi ses études sur la flore quaternaire de l'Angleterre et a résumé l'ensemble des résultats obtenus : la flore du *forest-bed* de Cromer, sur la côte de Norfolk, correspondant au sommet du Pliocène, est composée d'espèces qui, à quelques exceptions près, comme *Picea excelsa* et *Trapa natans*, vivent encore dans le pays et dénotent par conséquent un climat très analogue au climat actuel. A cette flore préglaciaire a succédé une flore glaciaire à *Salix polaris* et *Betula nana*, et le pays a subi alors un premier affaissement, suivi d'un second à l'époque interglaciaire, laquelle est caractérisée par une flore mixte, comprenant à la fois des formes boréales et des formes méridionales, accompagnées de produits de l'industrie paléolithique. Plus haut viennent de nouveau des dépôts à végétaux de régions froides, mais renfermant des espèces encore indigènes, et correspondant à la deuxième époque glaciaire, durant laquelle le sol de l'Angleterre a subi un relèvement. Enfin les dépôts postglaciaires, de l'époque néolithique, sont représentés par des forêts submergées et par des tourbes, avec flore semblable à celle de l'époque actuelle. Il convient toutefois d'ajouter que, d'après M. Weber (3), l'époque interglaciaire unique de M. Reid, à flores mélangées, représenterait les deux époques interglaciaires et la deuxième époque glaciaire du Nord de l'Allemagne, celle-ci paraissant bien marquée à Hoxne, dans le Suffolk, par une couche d'argile renfermant surtout des plantes de régions froides, notamment *Salix polaris*, *Sal. herbacea*, *Betula nana*, qui manquent au-dessus et au-dessous.

En dehors de l'Europe, les seules observations qu'il y ait à mentionner sont celles de MM. Coleman et Penhallow (4) sur les dépôts

(1) E. v. Toll : Note sur la flore postglaciaire de Tittelmünde en Courlande (*Bull. Com. Géol. de St-Pétersbourg*, 1898, p. 179-183).

(2) C. Reid : The relation of palæolithic man to the glacial epoch (*Rep. Brit. Assoc. Adv. Sci.*, Liverpool 1896, p. 400-415, pl. I; 1897); Pleistocene plants from Casewick, Shacklewell and Grays (*Quart. Journ. Geol. Soc.*, LIII, p. 463-464 ; 1897) ; Further Contributions to the geological history of the British Flora (*Ann. of Bot.*, XII, p. 243-250; 1898); The origin of the British Flora. Londres. In-8°, VII-191 p.; 1899).

(3) C.-A. Weber : Versuch eines Ueberblickes über die Vegetation der Diluvialzeit (*Naturwiss. Wochenschr.*, XIV, p. 525-528, p. 537-543 ; 1899).

(4) A.-P. Coleman and D.-P. Penhallow : Canadian Pleistocene Flora and Fauna (*Rep. Brit. Assoc. Adv. Sci.*, Bristol 1898, p. 522-529 ; *ibid.*, Bradford 1900, p. 328-339).

Digitized by Google

interglaciaires à végétaux fossiles du Canada, dans lesquels ils distinguent trois horizons : le plus inférieur, celui de la Don River, renferme une flore très analogue à la flore actuelle de la région moyenne des Etats-Unis, comprenant notamment *Juniperus virginiana*, *Quercus obtusifolia* et *Q. oblongifolia*, *Platanus occidentalis*, *Fraxinus quadrangulata*, *Asimina triloba*, *Maclura aurantiaca*, qui indiquent, ce dernier surtout, un climat plus chaud que celui qui règne aujourd'hui sur le même point ; on y remarque en outre une espèce actuellement disparue, *Acer pleistocenicum*, qui rappelle à la fois l'*A. rubrum* et l'*A. platanoides*. Les dépôts plus élevés des Scarborough Heights, près de Toronto, ont fourni au contraire une flore plus froide que celle qui occupe aujourd'hui les mêmes lieux, dénotant un climat analogue à celui du Labrador, et renfermant, entr'autres espèces, *Abies balsamea*, *Picea alba*, *Vaccinium uliginosum*, *Oxycoccos palustris*. Enfin à Green's Creek, près d'Ottawa, et à Montréal, sur un horizon compris entre celui de la Don River et celui des Scarborough Heights, ou peut-être postérieur à ce dernier, M. Penhallow a observé une flore à la fois moins froide que celle de Scarborough et moins chaude que celle de la Don River, identique en somme à la flore actuelle de ces mêmes localités.

450 - Lille, imp. Le Bigot frères. Le Gérant : Th. Clerquin

Digitized by Google

L'INFLUENCE DES AGENTS EXTERNES

SUR LA DIVISION DES NOYAUX

DANS LES RACINES DE *VICIA FABA*

par M. V. SABLINE (1).

(PLANCHES 15 et 16).

Jusqu'à présent la division du noyau a été principalement étudiée au point de vue morphologique, mais une autre question tout aussi intéressante, l'altération dans la marche normale de la division du noyau sous l'influence de divers agents externes, a été moins abordée. Dans la littérature, surtout zoologique, des derniers temps, dont il est question à la suite, on rencontre déjà des indications sur l'influence de la température, de l'oxygène, de la nutrition, des anesthésiques et des poisons, des acides, des alcalis, de la concentration des solutions, de la pression et de l'extension, des blessures et de l'électricité sur cette division.

Sur la proposition de M. le professeur V. Palladine, à qui je me permets d'exprimer ici ma profonde reconnaissance pour son appui constant, j'ai entrepris des expériences sur l'influence de la température (0°, + 10°, + 30°, + 40° C), du manque d'oxygène, de la nutrition (saccharose), du manque de nutrition, des vapeurs d'éther sulfurique, du sulfate de quinine et, enfin, du chlorure de lithium sur la kariokinèse. J'ai opéré sur les extrémités des jeunes racines de *Vicia Faba*, les semences ont été mises à germer dans la terre ou la sciure de bois.

Quant au mode de recherche adopté, les meilleurs résultats ont été obtenus en fixant avec le liquide de Merkel (une partie d'acide chromique à 1 %, une partie de chlorure de platine à 1 %

(1) Travail fait dans le Laboratoire de Physiologie végétale à l'Université de St.-Pétersbourg, 1902.

Digitized by Google

($PtCl_4$), six parties d'eau). Après 24 heures, on a lavé à l'eau pendant toute une journée les sujets opérés. Ensuite les sujets, après avoir été imprégnés par la paraffine, a travers le xylol, ont été divisés sur le microtome en coupes. Ces coupes, collées sur un verre objectif au moyen d'une faible solution aqueuse d'albumen sec, ont été colorées par le procédé Hermann : d'abord, on les a trempées pendant 5 minutes dans une solution de 1 gr. de safranine, de 10 cent. cub. d'alcool, de 90 cent. cub. d'eau d'aniline, ensuite, on les a lavées à grande eau, *légèrement* dans de l'alcool à 95 °/₀, puis encore dans de l'eau. et alors, on les a colorées pendant 2 minutes dans une solution de gentiane violette de la même composition que la couleur précédente ; après un nouveau lavage à l'eau, on les a fait passer pendant 5 minutes dans une solution d'iode (1 gr. d'iode, 2 gr. d'iodure de potassium, 300 cent. cub. d'eau) et encore lavées à l'eau ; cette eau a été enlevée *rapidement* avec de l'alcool absolu et on a différencié les coupes dans de l'huile de girofle que l'on éliminait directement avec du xylol. Ensuite les coupes ont été montées au baume de Canada.

On a obtenu la coloration suivante : les nucléoles, ainsi que les produits de leur désintégration, sont toujours rouges, tandis que la chromatine est normalement bleue. Cependant, d'ordinaire la coloration de la chromatine à certains stades (depuis l'étoile jusqu'aux étoiles filles et aussi au dernier stade de spirème) tourne souvent au violet ou même au rouge ; seulement chez les noyaux au repos et au stade de spirème la coloration normale est toujours bleue (anormalement, même ici elle peut être rouge, par exemple, dans le cas de manque de nutrition, sous l'influence de l'action prolongée du sulfate de quinine, du chlorure de lithium, etc.)

Les dessins ont été faits en se servant de l'objectif apochromatique de Zeiss de 2 mill. avec l'oculaire de compensation n° 8, en pleine lumière blanche. Ici, il ne sera pas inutile de faire remarquer qu'avec l'objectif d'immersion de Leitz de 1/12 et avec l'oculaire III il a été impossible de distinguer les petits nucléoles rouges dans le protoplasma (par exemple, fig. 23, Pl. 15 et 16), de déterminer la véritable coloration des nucléoles rouges dans le noyau au repos (fig. 2) qui paraissaient bleu violets ; des groupes de petits nucléoles rapprochés simulaient une bande simple (fig. 4) ; également, des groupes de chromosomes bleus rapprochés et

Digitized by Google

enchevêtrés, et des nucléoles rouges assez petits avaient l'apparence d'un peloton rouge violet de chromatine, homogène et dans lequel tout s'est fondu ensemble. Dans les dessins, on a adopté le bleu pour représenter une coloration purement bleue et le rouge pour les différentes variations de cette couleur et pour le rouge pur.

EXPÉRIENCES ET RÉSULTATS

I. Température. — 1) Les objets à examiner, enfermés dans un thermostat, ont été exposés dans une chambre humide, à une température de 40 degrés, pendant 2 heures. La division s'est arrêtée chez presque tous les noyaux : en moyenne, seulement un ou deux cas de kariokinèse ont paru sur le champ du microscope (environ 85). Chaque noyau renferme 1-2 gros nucléoles, se divisant quelquefois par étirement (fig. 2 et 3) ; en outre dans la plupart des noyaux on rencontre des petits grains ronds de coloration rouge, ainsi que les nucléoles (fig. 2, 3, 4, 7, 8). Souvent, on trouve des nucléoles de forme irrégulière (fig. 7), des groupes de nucléoles de grosseur moyenne (fig. 4) et, enfin, des groupes de petits nucléoles. Dans tous ces cas, ils sont accompagnés d'un plus ou moins grand nombre (jusqu'à 20) de ces grains rouges. Quelquefois, il n'y a pas de nucléoles du tout, mais, à sa place, des petits grains séparés (fig. 5 et 6). Au stade d astroïde, quand les chromosomes se sont déjà divisés, on peut constater des petits grains rouges, isolés, de différentes grosseurs, disposés parmi les chromosomes, à leur surface et quelquefois immédiatement à leur intérieur ou en partie librement dans le protoplasma. Il est évident qu'ils se sont formés par suite de la fragmentation du nucléole (fig. 9). On peut mentionner ici que, dans plusieurs cas, on est parvenu à produire la réconstitution des nucléoles dans d'autres préparations (par exemple, avec des fèves élevées dans une temperature de + 30° C). Zimmerman (1) et Bélajeff (2) ont décrit des faits analogues. Chez quelques noyaux, on remarque souvent autour des gros nucléoles, un champ lumineux, comme une auréole (fig. 2 et 8). Souvent, aussi, on constate, chez les gros nucléoles, la présence de vacuoles, une seule ou

(1) Zimmerman : Beitrage zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle. Bd. 2. Heft 1. 1893.

(2) Bélajeff : Zur Kentniss der Karyokinese bei den Pflanzen.

Digitized by Google

plusieurs de différentes grosseurs (fig. 3 et 8). Dans les noyaux au repos, la chromatine se présente sous divers aspects : 1) sous la forme d'un réseau assez gros, à larges mailles, renfermant souvent dans ses nœuds les grains rouges, dont il a été question plus haut, et un ou deux nucléoles (fig. 3) ; 2) comme un réseau fin, d'une coloration pâle, à petites mailles, contenant des nucléoles de différents genres (fig. 2, 4, 5, 6, 7) ; 3) sous la forme d'un fin réseau, saturé de colorant, à petites mailles, contenant un ou deux nucléoles de forme ovale et gros (les petits grains sont rares) — soit le stade préparatoire à la division (fig. 1) ; 4) comme des grains peu nombreux (5-15), saturés de colorant avec des nucléoles de différentes espèces (fig. 8). On trouve des cellules avec deux noyaux. Les noyaux au repos ont pris un fort grossissement (0,0103 — 0,136 mill.) (1).

2) Les objets dans la chambre humide ont été placés dans la neige. Après deux heures, la température s'abaissa jusqu'à zéro, se maintient à ce niveau pendant 3 heures, ensuite monta graduellement (durant la nuit) jusqu'à + 7 C; le matin, les objets ont été passés dans l'eau, pendant 24 heures, à la température ordinaire. La plupart des noyaux sont au repos ; comme figures de division, il n'y a plus qu'un à deux gros nucléoles, souvent avec auréole et vacuoles, 1-2; beaucoup se divisent ; il y a un grand nombre de petits grains. Les noyaux au repos renferment un fin réseau de chromatine avec des mailles de grosseur moyenne. La chromatine est colorée en bleu. La même structure s'observe chez ces noyaux qui, apparemment, sont à l'état d'amitose ; ils paraissent allongés, étirés en forme de biscuits et sont munis d'un ou plusieurs nucléoles (fig. 10). (2) Au stade spirème, les gros filaments chromatiques, qui présentent une apparence granulaire, renferment de

(1) Prillieux a trouvé l'hypertrophie de la cellule, a une température élevé dans les cellules du parenchyme de la racine du *Phaseolus* et du *Cucurbita*. Prillieux : Hypertrophie et multiplication des noyaux dans les cellules hypertrophiées des plantes. Comptes rendus. T. 92.

(2) Gerassimoff et Nathansohn ont obtenu l'amitose, à une température abaissée, sur les Spirogires. Gerassimoff : Ueber die kernlosen Zellen bei einigen Conjugaten. Bullet. de Soc. Imp. d. Nat. d. Moscou. 1896. N° 1.— Gerassimoff : Ueber ein Verfaren kernlose Zellen zu erhalten. Bull. d. Soc. Imp. d. Nat. d. Moscou 1896 N° 3. — Nathanson : Physiologische Untersuchungen ueber amitotische Kerntheilung Jahrbüch. f. Wiss. Bot. 1900. T. 85.

Digitized by Google

gros grains rouges, mais il y a encore un nucléole (fig. 11). A ce stade, la chromatine est colorée en bleu ; mais aux stades spirème, quand déjà des chromosomes ont commencé à se former, elle est rouge ; cependant, et même dans ce stade, on peut voir de petits grains séparés parmi les chromosomes, les restes du nucléole (fig. 12). Les autres stades de la division n'ont pas été observés. Il y a un assez grand nombre de cellules avec deux noyaux. La grosseur des noyaux est 0,0085 — 0,0102 mill.

3) On a fait germer les semences dans la sciure humide, dans une orangerie, à la température de 10°C. Elles ont poussé très lentement : au bout de deux semaines, la longueur des racines n'était que de 1-0,5 cent. Le nombre de mitoses est considérable : en moyenne, 18-20 sur 85 □ μ. Les noyaux au repos et les figures de division sont tout-à-fait normaux. Chez les noyaux au repos il y a 1-2 gros nucléoles, rarement à l'état de division ; quant aux petits grains ordinairement il n'y en a pas ; on peut voir, mais très rarement, 1-2 petits grains ; il y a ordinairement une auréole (fig. 13) ; les vacuoles se rencontrent très rarement. Au contraire, pendant la division, on peut toujours remarquer (aux stades astroïde, métaphase, double astroïde et double spirème) sur les chromosomes, parmi eux et à leur intérieur de nombreux grains assez gros. Le plus grand nombre s'observe au stade métaphase (fig. 15 et 17) ; plus tard, leur nombre diminue : au stade double spirème il n'y en a plus que 3-4 (fig. 14). Souvent on rencontre des stades spirèmes avec des chromosomes scindés et quelquefois, avec des vacuoles dans le nucléole. Surtout les fils du fuseau sont clairement visibles ; aussi les grains de la plaque cellulaire. A tous les stades, la chromatine est bleue. La grosseur des noyaux est normale (0,0085 — 0,0102 mill.).

4) On a fait germer les semences dans la sciure humide, dans un thermostat à la température de + 30°C. Au bout de 3 jours déjà, les racines avaient atteint une longueur de 2-3 cent. Il y a un assez grand nombre de figures kariokinétiques, 10-12 sur 85 □ μ. Il se présente des cellules avec 2 noyaux. Chez les noyaux au repos outre 1-2 nucléoles, quelquefois à l'état de division, il y a beaucoup de petits grains. Au premier stade du spirème, outre 1-2 nucléoles on trouve aussi de petits grains ; aux stades plus avancés, quand les chromosomes sont déjà scindés, il n'y a pas de grands nucléoles,

Digitized by Google

mais les petits grains sont disposés parmi les moitiés des chromosomes. Dans d'autres cas il y a très peu de ces grains ou même pas du tout ; chez les chromosomes séparés dans le spirème la coloration est rouge, mais on ne remarque pas de division longitudinale, elle a lieu au stade de l'étoile, laquelle est aussi colorée en rouge : ici non plus, il n'y a pas de petits grains. Au commencement du stade double astroïde, les chromosomes sont aussi rouges, mais dans le protoplasma de la cellule apparaissent déjà des petits grains rouges. Plus loin, les chromosomes deviennent bleus et granulaires, le nombre de grains rouges augmente, ils commencent à grossir et beaucoup d'entre eux, ressemblant déjà à des nucléoles véritables, se trouvent parmi les chromosomes et à l'intérieur d'eux (fig. 20).

Vers le moment de la formation des spirèmes filles (double spirème) dans le protoplasma tous les grains disparaissent mais dans le noyau (bleu) il se forme 2-3 nucléoles véritables. En se basant sur ce qui a été dit, on pourrait supposer que la coloration rouge des chromosomes dépend de ce que la substance du nucléole, tombant en très menus fragments, se distribue dans les chromosomes, comme le suppose O. Hertwig (1) et Flemming (2). Ce dernier dit : « il est très remarquable que dans les cas où il y a des nucléoles ou qu'ils viennent de disparaître, la chromatine a une tendance vers la coloration bleue, tandis qu'au stade où il n'y en a pas ou qu'ils viennent de paraître la chromatine est érythrophile, comme l'est aussi le nucléole ». Mais une telle supposition est contredite par l'existence du stade du spirème, avec un gros nucléole et des chromosomes rouges (fig. 24) ; par la possibilité d'une coloration bleue des étoiles filles, sans la moindre trace de nucléoles (après traitement avec de l'éther sulfurique), (fig. 34) ; enfin, aussi par la coloration rouge des noyaux au repos (privés de nutrition (fig. 27), après traitement avec du sulfate de quinine (fig. 36 et 37) et souvent après le chlorure de lithium. Apparemment, il serait plus correct d'admettre qu'une telle différence dans la coloration dépend des procédés intérieurs de la nutrition, comme l'indique Zimmerman (3). « La différence dans la coloration, dit-il,

(1) O. Hertwig : Die Zelle und de Gewebe. Jena. 1893.

(2) Flemming : Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle. Th. II Archiw. für mikrosc, Anat., 1891. Bd. 37.

(3) Zimmermann : Ueber chemische Zusammensetzung des Zellkernes. Zeitsch f. Wiss. Mikroscopie, 1896. Bd. 4.

Digitized by Google

dépend de l'objet, » et encore : « il est très possible que la relation du noyau aux substances colorantes devra ramener au procédé physiologique de la nutrition ». Strasburger (1) dit également : « la réaction érythrophile montre qu'il y a dans le noyau plus de cytoplasma que de matières nutritives ». Cette supposition se confirme en partie aussi par le fait que les mauvaises conditions (privation de nutrition, fig. 27 et, encore davantage, l'action pendant 5 jours du sulfate de quinine fig. 35, 36 et 37) provoquent chez la chromatine une coloration rouge. Dans tous les cas le changement dans la coloration indique aussi une modification quelconque dans la composition chimique des substances albuminoïdes qui forment le noyau ; car d'après les dernières recherches de Heidenhain (2) il est clair que la théorie de la coloration physique de Fischer est tout à fait incorrecte et que l'ancienne théorie, d'après laquelle la coloration histologique est un phénomène chimique reçoit une nouvelle confirmation.

Heidenhain a trouvé que les colorants acides d'aniline et les colorants acides libres (Farbsaüre) sont capables de précipiter l'albumen d'une solution et donner avec lui des acidalbumoses ; si en même temps l'acide est incolore ou d'une autre couleur que son sel correspondant (par exemple, la Benzopurpurine, le rouge Congo — l'acide est noir violet, le sel est rouge), alors les acidalbumoses aussi reçoivent la même coloration que le sel. Egalement avec des colorants basiques, l'acide donne des sels nucléoles, ayant la coloration du sel et non pas de la base (par exemple, dans le bleu du Nil — la base est rouge rubis, tandis que le sel est bleu foncé). Ainsi « les nucléoprotéides du noyau, dit Heidenhain, avec leurs propriétés d'acides, constituent ce qui se combine directement avec la matière colorante ou en détache la base ». Au stade des étoiles filles, on remarque certaines irrégularités. Quelquefois les chromosomes filles se sont déjà séparés et des spirèmes contenant déjà de gros nucléoles, commencent à se former ; mais quelques chromosomes (3-4) sont fortement en retard et réunissent,

(1) Strasburger : Ueber das Verhalten des Pollens und die Befruchtungvorgänge bei den Gymnospermen. Histolog. Beitr., 1892. Heft I.

(2) Heidenhain : Ueber chemische Umsetzungen zwischen Eiweiskörpern und Anilinfarben. Arch. für d. Phys. d. Menchen und d. Thiere, 1902. Bd. 90.

Digitized by Google

pour ainsi dire, les deux noyaux filles (fig. 19) (1), ils renferment encore quelques (5-8) petits grains rouges. On remarque aussi des étoiles filles multipolaires (3-4 pôles) avec un nombre variable de chromosomes, colorés en rouge, et avec beaucoup de grains dans le protoplasma. Dans les cas favorables, on voit que chaque faisceau de chromosomes est réuni aux autres par un fuseau spécial (fig. 18) (2). Les fils du fuseau se voient assez clairement. La grosseur des noyaux est 0,0102-0,0119 mill.

II. Oxygène. — Les objets ont été placés au dessus d'une solution de pyrogallate de potasse ; pendant 2 jours, enfermés dans un vase clos en verre (aux bords polis et enduits de suif), muni d'un robinet par lequel on retirait l'air à l'aide d'une pompe à main. Le nombre de mitoses assez considérable : 19-21 sur 85 μ. Dans les noyaux au repos, souvent avec des vacuoles, il y a 1-2 gros nucléoles et un très grand nombre de petits grains. Ils se rencontrent même au stade préparatoire à la division avec de gros nucléoles, avec un réseau fin de chromatine, d'une coloration saturée (fig. 22), les mêmes petits grains se rencontrent aussi pendant la karyokinèse, aux stades du spirème, des doubles étoiles et double spirème. La chromatine est colorée en bleu, mais au dernier stade du spirème (fig. 21), aux stades astroïde et double astroïde, la coloration est rouge ; la kariokinèse continue et les figures ont une apparence normale (leur nombre est normal comme on l'a déjà dit) ; seulement les fils du fuseau sont à peine visibles et lors de la formation des noyaux filles on ne remarque pas même une trace de la plaque cellulaire (3). Au stade double spirème, quand déjà de véritables

(1) Schrammen a décrit de pareilles irrégularités, après une élévation de température, dans les parties supérieures de la région de croissance de la tige chez le *Vicia Faba*. — Schrammen : Ueber Einwirkung von Temperaturen auf die Zellen des Vegetationpunktis des Sprosses von *Vicia Faba*. Inaug. Diss. Bonn. 1902.

(2) Schrammen (loc. cit.). Galleotti a observé la même chose sur les larves de la grenouille. Galleotti : Ueber experimentelle Erzeugung von Unregelmässigkeiten des karyokinetischen Process. Beitr. pat. Anat. 1896. Bd. 20.

(3) Demoor a fait la même observation sur les poils d'étamines du *Tradescantia* et sur les leucocites.

Demoor : Contributions à l'étude de la physiologie de la cellule. Arch. de Biologie, 1895. T. 13.

Samassa : Ueber die Einwirkung von Gasen auf die Protoplasmastrommung von *Tradescantia*, sowie auf die Embryonalentwiekelung von *Rana* und *Ascaris*. Verh. Nat. Med. Ver. Heidelberg. 1898.

Digitized by Google

nucléoles commencent à se former, on ne voit pas du tout de nouvelle cloison (fig. 25). Probablement c'est pourquoi on rencontre beaucoup de cellules avec deux noyaux. La grosseur des noyaux est 0,0119 - 0,102 mill.

III. Nutrition et manque de nutrition. — 1) Les extrémités des racines du sujet sont été placés pendant 2 jours dans une solution de saccharose de 5 °/₀. Presque tous les noyaux se divisent (cependant on rencontre principalement diversés formes de spirème) ou se préparent à la division, ils sont extrêmement gros et très riches en chromatine. Ils contiennent 1-2 nucléoles, quelquefois avec des vacuoles, et de petits grains rouges, la chromatine est disposée dans la forme d'un réseau (fig. 26) : en général, la vue rappelle le stade correspondant du Lis. Quelquefois, la chromatine à la forme de filaments allant du nucléole à la périphérie du noyau, s'embranchant et s'y attachant (fig. 25), la coloration est bleue. On rencontre des noyaux avec des chromosomes séparés, rouges, dont les extrémités sont dirigées vers un pôle et le coude vers l'autre pôle sur la surface du noyau, qui a encore une membrane et un gros nucléole (fig. 24). La grosseur des noyaux est 0,0119 — 0,0136 mill.

2) Des coupes des racines de l'objet, 3 cent. de longueur, ont été placées, pendant 4 jours, dans de l'eau distillée et tenues dans l'obscurité. Il n'y a pas de mitoses. Tous les noyaux sont au stade de repos. Il y a très peu de chromatine. Dans chaque noyau, il y a 1-2 gros nucléoles; souvent avec des vacuoles; aussi un très grand nombre de grains rouges de différentes grosseurs; cepen-

De plus, Samassa dit que, lors de la fragmentation de l'œuf de la grenouille, le manque d'oxygène, aux premiers stades, ne provoque qu'un retardement, mais près du stade blastula, la mort s'ensuit.

Samassa : Ueber die aüsseren Entwickelungsbedingungen der Eier von *Rana temporaria*. Verh. D. Z. Ges. Vers. 6. 1896.

Schultze confirme ce même fait sur le même sujet. Schultze. Ueber den Einfluss des Luftmangels auf die erste Entwickelung des Eiers. Verh. Physik. Med. Ges. Wurzburg. 1899. Bd. 30.

Loeb a obtenu les résultats les plus intéressants. Il paraît que différents sujets se conduisent différemment par rapport à l'oxygène, lors de la segmentation des œufs d'Echinodées et du poisson *Ctenolabrus*, le manque d'oxygène fait cesser la formation des stries, mais avec les œufs du poisson *Fundulus*, la division continue normalement, quoique d'une manière plus lente. Loeb. Untersuchungen über die physische Wirk. des Sauerstoffmangels. Arch. f. d. Ges. Physiol. Bd. 62, 1896.

Digitized by Google

dant, dans quelques noyaux il n'y en a pas du tout. La chromatine se trouve en très petite quantité : un réseau très fin à peine coloré pour la plupart, aussi rouge (fig. 27), mais quelquefois bleu clair (fig. 30) ; souvent il n'y a point de réseau et le corps du noyau apparaît incolore (1). Dans ce dernier cas, outre le nucléole. il peut y avoir des grains rouges de différentes grosseurs et en quantité variable (fig. 28) (il est possible que quelques-uns d'entre eux soient des grains de chromatine) ; mais quelquefois même ceux-ci n'existent pas et le nucléole seul apparaît coloré (fig. 29). La grosseur des noyaux est 0,0068 — 0,0102 mill.

IV. Éther sulfurique. — Les objets ont été placés, pendant 4 jours, dans une chambre humide, d'une capacité de 6.6 l., où l'on avait introduit un vaisseau à fond plat, contenant 1 cent. d'éther sulfurique. Il y a beaucoup de mitoses ; 16-21 sur 85 □ μ. Il y a des cellules avec deux noyaux. On rencontre des amitoses : un noyau étiré en forme de biscuit avec 1-2 nucléoles, quelquefois aussi avec de petits grains rouges et un fin réseau coloré en bleu, de chromatine (fig. 31) (2). Dans les noyaux au repos, il y a 1-2 gros nucléoles, souvent à l'état de division, avec une auréole. mais les vacuoles et les petits grains ne se rencontrent pas chez tous les noyaux, et alors même, ils n'y sont pas en nombre considérable (5 8). On trouve des stades du spirème avec un mince filament (bleu) de chromatine, enroulé en spirale, avec membrane, 1-2 gros nucléoles, mais sans petits grains rouges (fig. 32) ; ces grains ne paraissent pas non plus au stade d'étoiles-filles. A ce stade les chromosomes sont bleus dans quelques noyaux et rouges dans d'autres ; les chromosomes

(1) Brass, en opérant avec les Infusoria, est arrivé aux mêmes résultats. Brass : Die Organisation der thierichen Zelle. Biologische Studien. 1883. Schwarz : — Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 5. Heft I.

Lawdowsky : Von der Entstehung der chromatischen und achromatischen Substanzen in den thierischen und pflanzlichen Zellen. Anat. Hefte. 1894. B D. 4. Zacharias : Ueber den Nucleolus. Bot. Zeit. 1885.

(2) Gerassimoff et Nathansohn ont remarqué la même chose sur les Spirogyres (loc. cit.) et O. Hertwig chez l'*Actinosphaerium* (chloroforme). O. Hertwig : Ueber patologische Veränderung des Kerntheilungsprocesses infolge experimenteller Eigriffe. Internat. Beiträg. z. wiss. Medicin. 1891. Bd. I.

Haecker : Sur les œufs du Cyclops. Haecker. Mitosen im Gefolge Amitosen ähnlichen Vorgänge. Anat. Anzeig. 1900. Bd. 17.

Digitized by Google

sont souvent disposés irrégulièrement (fig. 33 et 34); quelques-uns d'entre eux devancent les autres ou bien ne sont pas parallèles à l'axe de la (1) figure. Les fils du fuseau sont à peine visibles. La grosseur des noyaux est 0,0068 — 0,0110 mill.

V. Sulfate de quinine. — 1) Les extrémités des racines de l'objet ont été placées pendant 5 jours, dans une solution de sulfate de quinine de 0,0041 °/₀. Tous les noyaux sont au repos. Il n'y a pas de mitoses. On remarque des cellules avec deux noyaux. On rencontre des amitoses : le noyau, avec 1-2 gros nucléoles, avec vacuoles, paraît étiré en forme de biscuit et contient des filaments granuleux, faiblement colorés, de chromatine, sous la forme d'un réseau à larges mailles, ces filaments renferment des grains d'une coloration plus saturée, la chromatine et le nucléole aussi sont rouges (fig. 35). Dans les noyaux au repos, il y a 1-2 gros nucléoles, quelquefois à l'état de division, avec vacuoles et beaucoup de petits grains rouges. La quantité de chromatine n'est souvent pas moindre que chez les noyaux normaux ; mais la coloration est purement rouge. Elle est disposée tout à fait normalement en forme d'un réseau à petites mailles (fig. 37); mais quelquefois, comme il arrive au stade préparatoire au mitose, elle prend la forme d'un réseau fin, d'une coloration saturée (fig. 36) ; dans tous les cas, il y aussi de petits grains rouges. Quelquefois, le corps du noyau est tout à fait incolore ; il y a seulement un nucléole (fig. 29), mais quelquefois aussi de petits grains (fig. 28). Les nucléoles, de même que la chromatine, sont toujours purement rouges. La grosseur des noyaux est 0,0081 — 0,0102 mill.

2) Les extrémités des racines du sujet ont été placées, pendant 30 minutes, dans une solution de sulfate de quinine de 0.04 °/₀ ; après cela, on les a fait passer dans l'eau pure, pendant 1 heure. Il y a un assez grand nombre de mitoses : 16-19 sur 85 □ μ. On trouve des cellules à deux noyaux. Il y a des amitoses ; le noyau, étiré en forme de biscuit, avec des nucléoles, contient un réseau (bleu), à grosses mailles, de chromatine, renfermant de petits grains rouges (fig. 38). Dans les noyaux au repos, il y a 1-2 gros nucléoles, souvent à l'état de division, avec vacuoles et beaucoup

(1) De même Némec (chloroforme). Némec : Zur Physiologie der Kern-und Zelltheilung. Bot. Centralbl. 1899. Bd. 77.

Digitized by Google

de chromatine sur la forme d'un réseau fin à petites mailles. On trouve des stades spirèmes avec 1-2 nucléoles et des filaments serpentés à petites granulations de chromatine, dans lesquels sont englobés, en nombre considérable, des grains rouges de différentes grosseurs. Il y a aussi beaucoup de spirèmes avec 1-2 nucléoles, avec de courts filaments serpentés de chromatine, qui ont commencé à se diviser longitudinalement, et avec des grains rouges, dont les plus gros se trouvent entre les filaments et les plus petits dans le protoplasme de la cellule (fig. 39). A ces stades la chromatine a toujours une coloration bleue, mais à la fin du stade spirème, des étoiles-filles, elle est colorée en rouge. Outre les figures kariokinétiques normales, il y en a qui ont 4 pôles : lors de la divergence des chromosomes, il se forme 4 étoiles-filles ; avec cela, quelquefois, tous les 4 fuseaux apparaissent distinctement (fig. 40, 41, 43) ; mais d'autres fois, deux fuseaux se trouvent côte à côte, l'un près de l'autre, et la figure paraît tripolaire (fig. 42) ; dans le protoplasma des cellules il y a beaucoup de petits grains rouges. Les fils du fuseau sont clairement visibles ; sur quelques figures multipolaires on peut voir deux (fig. 40, 42) et quelquefois trois (fig. 43) fuseaux. Cependant, on n'a pas pu remarquer distinctement la disposition des fuseaux, par la raison qu'on n'a pas observé, une seule fois, une disposition des pôles aussi symétrique que celle décrite par O. Hertwig pour les œufs d'Echinodermes (1). La grosseur des noyaux est 0,0085-0,0102 mill.

VI. Chlorure de lithium. — Les objets ont été placés pendant un jour, dans une solution de Li Cl. de 0,4 % (1). Chez les uns, le Li Cl. a réagi fortement sur la périphérie de la racine. Une section montre la partie axiale colorée en bleu, tandis que la périphérie a une coloration rouge. Dans la partie centrale (bleu), il y a des mitoses, etc. ; mais dans la partie extérieure (rouge), il n'y a presque pas de chromatine, il n'y a pas de mitoses non plus ; dans les noyaux se trouvent 1-2 nucléoles, souvent à l'état de division, avec des vacuoles, aussi des grains séparés ; quelquefois ces grains sont complètement absents et le corps du noyau est incolore. La quantité de chromatine s'augmente depuis la périphérie jusqu'à la partie

(1) Hertwig O. et R. : Ueber den Befruchtungs und Theilungsvorgang des thierischen Eiers unter dem Einfluss ausserer Agentien.

Digitized by Google

axiale. 2) Dans d'autres cas, le Li Cl a réagi plus faiblement, mais d'une manière plus uniforme ; la coloration est rouge, mais on trouve des noyaux séparés, où elle est bleue. Dans les noyaux au repos, outre le réseau de chromatine, 1 ou 2 nucléoles, souvent à l'état de division ; il y a des vacuoles et de petits grains. La chromatine, comme on l'a déjà dit, a une coloration rouge ; mais dans les noyaux séparés, elle est aussi bleue. Elle existe en grande quantité. Il y a assez peu de mitoses : pas plus de 6-7 sur 85 □ μ. Les figures kariokinétiques sont ordinairement anormales ; par exemple, au stade d'astroïde, les chromosomes sont, pour ainsi dire, embrouillés et disposés en 3-4 groupes irréguliers, séparés ; la coloration est rouge ; dans le protoplasma il y a de petits grains (fig. 47 et 49). On rencontre des stades d'étoiles-filles avec de gros nucléoles et des chromosomes retardés dans leur divergence, la coloration est aussi rouge (fig. 45). On ne voit pas de fils de fuseau. On trouve une division directe. Quelquefois on peut voir la division du nucléole, l'étranglement du corps du noyau, à l'endroit qui correspond au nucléole, et une masse de grains rouges sur un réseau bleu de chromatine (fig. 44). Dans d'autres cas, la chromatine se dispose en forme de filaments granuleux, parallèles à la longueur du noyau (fig. 48) ; le nucléole existe aussi ; la coloration est rouge. Il y a des noyaux sans, ou presque sans chromatine : ils ont seulement les nucléoles colorés et quelquefois des grains séparés. Il y a des cellules à 2 noyaux. La grosseur des noyaux est 0,0068-0,0102 millimètres.

BIBLIOGRAPHIE

1. Balbiani et Henneguy, *Sur la signification physiologique de la division cellulaire.* Comptes-rendus Ac. Sc. de Paris, 1896, v. 73.

2. Belajeff, *Zur Kenntniss der Karyokinese bei den Pflanzen.* Flora, 1894.

3. Brass, *Die Organisation der thierischen Zelle.* Biologische Studien, 1883. Halle.

4. Chabry, *Production expérimentale de la segmentation cellulaire, bornée au noyau.* Comptes-rendus hebd. d. séances et Mém. d. l. Soc. d. Biologie, 1888. T. 5. sér. 8.

5. Demoor, *Contribution à l'étude de la physiologie de la cellule.* Arch. de Biologie, 1895. T. 13.

Digitized by Google

6. Driesch, *Ueber Variation der Mikromerenbildung; Wirkung von Verdünnung des Meerwassers*. Mitteil. d. Zool. Stat. zu Neapel, 1895. Bd. 11.

7. Driesch, *Experimentelle Veränderung des Typus der Furchung-undihre Folge*. Zeitschrift f. Wiss Zoologie. 1893. Bd. 55.

8. Errera, *L'aimant, agit-il sur le noyau en division*. Bull. d. soc. Royale d. bot. d. Belgique. T. 29. P. II.

9. Flemming, *Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle*. II. Archiv für mikroscop. Anat., 1891. Bd. 37.

10. Galleotti, *Ueber experimentelle Erzeugung von unregelmassigkeiten des Karyokinettsches Process*. Beiträge patholog. Anat., 1896. Bd. 20.

11. Galleotti, *Alcune osservazioni sulla divisione directa negli epiteli*. Monitore Z. Ital., Anno 7.

12. Gerassimoff, *Ueber die kernlosen Zellen bei einigen Conjugaten*. Bullet. d. Soc. Imp. d. Nat. d. Moscou, 1892, N° 1.

13. Gerassimoff, *Ueber ein Ferfaren kerlöse Zellen zu erchalten*. Bull. d. Soc. Imp. d. Nat. d. Moscou, 1896, N° 3.

14. Haecker, *Mitosen im Gefolge Amitosenähnlicher Vorgänge*. Anatom. Anzeiger., 1900. Bd. 17.

15. Heidenhain, *Ueber chemische Umsetzungen Zwitschen Eiweisskörpern und Anilinfarben*. Arch. f. d. ges. Phys. d. Menschen u. d. Fhiere, 1902. Bd. 90.

16. Henneguy, *Nouvelles recherches sur la division cellulaire indirecte*. Journal de l'anatomie, 1891. Bd. 27.

17. Hertwig O., *Experimentelle Studien am Thierischen Ei vor, während und nach der Befruchtung*. Ien. Zeitschr. f. Naturwiss., 1890. Bd. 24.

18. Hertwig O., *Ueber pathologische Veränderung des Kernteilungs processes infolge experimenteller Eingriffe*. Internat. Beiträg. z. wiss. Medicin, 1891. Bd. 1.

19. Hertwig O., *Zelle und Gewebe*.

20. Hertwig R., *Kernteilungs, etc. bei Actinosphaerium Eichhorni*. Abh. d. K. Bayer Acad. 2 Cl. Bd. 19. Abt. 3. 1898.

21. Hertwig O.-R., *Ueber den Befruchtungs-und Theilungsvorgang des Theirischen Eies unter dem Einfluss ausserer Agentien*, 1887. Iena.

Digitized by Google

22. JOHOW, *Beitrag zur Entwickelungsgeschichte des Pflanzlichen Zellkerns nach der Theilung*. Bot. Zeitung, 1885.

23. KLEBS, *Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen* 1896. Iena.

24. KNY, *Ueber den Einfluss von Zug und Druck auf die Richtung der Scheidewände in sich theilenden Pflanzenzellen*. Berichte d. deutsch. Bot. Geselsch., 1896. Bd. 14.

25. KOSSEL, *Zur Chemie des Zellkernes Zeitschr. für physiol*, Chemie, 1885. Bd. 7.

26. LAWDOWSKY, *Von der Entstehung der chromatischen und achromatischen Substanzen in den thierischen und pflanzlichen Zellen*. Anat. Hefte, 1894. Bd. 4.

27. LAWDOWSKY, *La Karyokynèze*. Vratsch., 1885 (en russe).

28. LILLI AND KNOWLTON, *On the Effect of Temperature on the Developement of Animals. Zool.* Bull. Boston, 1897, vol. I.

29. LOEB, *Experiments on cleavage*. Journal of Morphology, 1892, vol. 7.

30. LOEB, *Beiträge zur Entwikelungsmechanik der aus einem Ei entstehenden Doppelbildungen*. Arch. Entwickelungsmech., 1895. Bd. 1. F. 18, 19.

31. LOEB, *Untersuchungen über die Physiologische Wirkung des Sauerstoffmangels*. Arch. f. d. des Physiol., Bd. 62, 1896.

32. MASSART, *La cicatrisation, etc.* Mém. publ. par l'Acad. royale de Belgique, 1898, F. 57.

33. MAUPAS, *Recherches expérimentales sur la multiplication des infusoires ciliés*. Arch. de Zool. expérimentale, 1888, F. 6, sér. 2.

34. MIGULA, *Ueber den Eeinfluss starkverdünnter Säuerlösungen auf Algenzellen*. Inaug. Diss., Breslau, 1888.

35. MORGAN, *The Production of Artifical Astrospheres*. Arch. Entwickelungsmech, 1896, Bd. 3, F. 19.

36. MORKOWINE, *L'action des anesthésiques sur la respiration des plantes*. Varsovie, 1901.

37. NATHANSOHN, *Physiologische Untersuchungen über amitotische Kerntheilung*. Jarbúch. f. Wiss. Bot., 1900, F, 35.

38. NĚMEC, *Zur Physiologie der Kern-und Zelltheilung*. Bot. Centralbl., 1899, Bd. 77.

39. OLIVIER, *Expériences sur l'accroissement des cellules et la multiplication des noyaux*. Bull. d. l. Soc. Bot. de France, 1882, t. 29.

Digitized by Google

40. Pfeffer, *Druck und Arbetsleistung durch wachsende Pflanzen*, 1893. Leipzig.

41. Pflüger, *Ueber die Einwirkung der Schwerkraft und anderer Bedingungen auf die Richtung der Zelltheilung*. Pflüger's Archiv. f. ges Physiol, 1884. Bd. 34.

42. Prillieux, *Hypertrophie et multiplication des noyaux dans les cellules hypertrophiées des Plantes*. Comptes-rendus, t. 92.

43. Rabl, *Ueber Zelltheilung*. Morph. Jahrb., 1885. Bd. 10.

44. Reinek, *Untersuchung über Befruchtung und Furchung des Eies der Echinodermen*. Sitz. Ber. K. Preus. Acad. d. Wiss., 1895, Bd. 30.

45. Richards, *Die Beeinflussung des Wachsthums einiger Piltze durch chemische*. Reize Jarb. f. Wiss. bot. Bd. 30.

46. Rosenvinge, *Influence de agents extérieurs sur l'organisation polaire et dorsiventrale*. Revue gén. de Bot., 1889. F. 3, ser. 7.

47. Roux, *Beiträge zur Entwickelungsmechanik des Embryo*. Breslauer ártzl. Zeitschr., 1885, Bd. 7.

48. Samassa, *Ueber die äusseren Entwickelungslebigungen der Eier von Rana temporaria*. Verh. D. Z. Ges., Vers 6, 1896.

49. Samassa, *Ueber die Einwirkung von Gasen auf die Protoplasmaströmmung von Tradescantia, sowie auf die Embryonalentwickelung von Rana und Ascaris*. Verh. Nat. Med. Ver. Heidelberg, Bd. 6, 1898.

50. Schotländer, *Ueber Kern und Zelltheilungvorgánge in dem Endothel der entzündeten Hornhaut*. Arch. f. mikr. Anat., 1888, Bd. 31.

51. Schrammen, *Ueber Einwirkung von Temperaturen auf die Zellen des Vegetationspunktes des Sprosses von Vicia Faba*. Inaug. Diss., Bonn, 1902.

52. Schultze, *Ueber den Einfluss des Luftmangels auf die erste Entwickelung des Eies*. Verh. Physik. Med. Ses., Würzburg, 1899, Bd. 32.

53. Schwarz, *Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas*. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pel. Bd. 5, Helft 1.

54. Strasburger, *Ueber das Verchalten des Pollens und die Befzuchtungvorgánge bei den Gymnospermen*. Histol. Beitr., 1892, Helft, 1.

55. Strasburger, *Zellbildung und Zelltheilung*, 1880, Iena.

56. Schimkewitsch, *Les éléments de zoologie*, 1902 (en russe).

Digitized by Google

57. WALDEMAR V. WASILEWSKI, *Theoretische und experimentelle Beiträge zur Kenntniss der Amitose*. Jarb. f Wiss. Bot., 1902, Bd. 93, Helft, 3.

58. WILDEMAN, *Recherche au sujet de l'influence de la température sur la marche, la durée et la fréquence de la caryocinêse du règne végétal*. Ann. Soc. Belgique d. mikroscopie, 1891, F. 15.

59. ZACHARIAS, *Ueber den Nucleolus*. Bot. Zeit., 1885.

60. ZIGLER, *Ueber Furchungunter Preussung*. Verh. d. Anat. Geselsch., 1894.

61. ZIMMERMAN, *Ueber Chemische Zusamensetzung des Zellkernes*. Zeitschr. f. Wiss. Mikroscopie, 1894. Bd. 4.

62. ZIMMERMAN, *Die botanische Mikrotechnik*, 1892.

63. ZIMMERMAN, *Die Morphologie und Physiologie des pflanzliches Zellkernes*, 1896. Iena.

64. ZIMMERMAN, *Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzelle*. Bd. 2. Heft. 1, 1893.

EXPLICATION DES PLANCHES 15 ET 16

Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9. — Exposition pendant 2 heures, à la température de 40° C.

Fig. 10, 11, 12. — Exposition, pendant 3 heures, à la température de 0° C. et 24 heures, à la température ordinaire.

Fig. 13, 14, 15, 16, 17. — Croissance à la température de 10° C.

Fig. 18, 19, 20, 21. — Croissance à la température de 30° C.

Fig. 22, 23. — Exposition, pendant 2 jours, sans oxygène.

Fig. 24, 25, 26. — Exposition, pendant 2 jours, dans une solution de saccharose de 5 °/₀.

Fig. 27, 28, 29, 30. — Exposition, pendant 4 jours, dans de l'eau distillée.

Fig. 31, 32, 33, 34. — Exposition, pendant 4 jours, avec éther sulfurique.

Fig. 35, 36, 37. — Exposition pendant 5 jours, dans le sulfate de quinine à 0,0048 °/₀.

Fig. 38, 39, 40, 41, 42, 43. — Exposition, pendant 30 minutes, dans du sulfate de quinine à 0,04 °/₀, 1 heure dans de l'eau.

Fig. 44, 45, 46, 47, 48, 48. — Exposition, pendant 1 jour, dans du Li Cl. à 4 °/₀.

Digitized by Google

REVUE DES TRAVAUX

DE PHYSIOLOGIE ET DE CHIMIE

VÉGÉTALES

PARUS DE 1893 à 1900 *(Fin)*

Czapeck (1) a consacré de nombreuses recherches à l'obscure question du *géotropisme*. Il a montré que si l'on enlève une partie importante du sommet de la racine principale, la croissance est entravée et on ne constate plus de courbure géotropique ; ce résultat est conforme aux observations de F. Darwin et Kirchner. Mais si l'on n'enlève qu'une toute petite partie du sommet, la croissance n'est pas complètement entravée et le géotropisme n'a pas disparu ; c'est ce qu'avaient d'ailleurs trouvé Wiesner et Molish.

Le sommet de la racine est le seul endroit de ce membre qui soit sensible au géotropisme ; l'excitation qui y est produite chemine et se transmet à la zone de croissance dans laquelle une courbure apparaît. Si le sommet de la racine, emprisonné dans un minuscule tube de verre coudé est dans la position normale, il n'y a pas de courbure géotropique et cela quelle que soit la position de la zone de croissance ; si au contraire le sommet n'est pas dans la position normale, la racine se courbe dans sa zone de croissance et le sommet se trouve ramené dans la position normale. Ce n'est pas la coiffe qui est la région sensible du sommet, mais bien la partie qui vient après la coiffe, sur une longueur de 1 millimètre 1/2 à 2 millimètres seulement.

Sous la tige, la zone sensible et la zone excitable semblent confondues.

On peut, en modifiant les conditions extérieures, empêcher la croissance et par suite la faculté de réaction, ou d'excitabilité, sans pour cela supprimer la sensibilité géotropique. Qu'on vienne en effet à remettre la plante dans les conditions normales, des courbures apparaîtront et seront la conséquence de cette sensibilité qui n'était nullement abolie. Il y a donc là un phénomène d'induction.

Ce phénomène peut du reste être mis encore en évidence de la façon suivante : on supprime la faculté de courbure de la racine en la plaçant

(1) Czapeck : *Untersuchungen ueber Geotropismus* (Jahrb. f. Wiss. Bot., 1895, 243).

Digitized by Google

dans du plâtre qui se solidifie; la sensibilité existe encore et elle fait sentir son action dès que le manchon de plâtre est enlevé.

En employant un procédé analogue, l'auteur a pu vérifier l'assertion de Sachs, d'après laquelle une racine retournée ne manifeste de géotropisme que par suite des mouvements de nutation du sommet; que ces mouvements viennent à être supprimés artificiellement, toutes les génératrices du cône terminal sont également influencées par la pesanteur et alors aucune courbure ne se produit.

Quant aux phénomènes d'induction dont il était question plus haut, il exige, pour se manifester par une courbure, un temps qui varie avec l'intensité de la force excitatrice, la force centrifuge, par exemple, développée par un clinostat en mouvement. Ce temps qui mesure la durée de l'excitation latente est par exemple de 3/4 d'heure, la force centrifuge étant de 28 à 35 *g*.; de 6 heures, cette force étant de 0,001 *g*.; de 1 heure 3/4 pour une force variant entre 3,5 et 0,9 *g*. Si la force centrifuge n'est que de 0,0005 *g*, il faut 8 heures et la courbure est très faible.

F. Darwin (1), en opérant sur des Graminées, a montré que la région sensible au géotropisme est localisée dans le cotylédon. Si l'on maintient fixe cette région et qu'on l'excite continuellement, les courbures se continuent dans la même direction; mais il est plus difficile de mettre ce phénomène en évidence avec l'héliotropisme.

Mais quels sont les *organites sensibles* à l'excitation géotropique? Nemec (2) admet que ce sont des corps figurés qui existent soit dans le suc cellulaire, soit dans le plasma et qui y occupent des positions déterminées par leur poids spécifique. Si l'on change la direction d'une racine, ces corps changent de place et cela assez rapidement par exemple en 15 ou 20 minutes, dans la coiffe de la racine de *Vicia Faba*. Ces corps figurés sont les chloroleucites et les amyloleucites avec ou sans grains d'amidon, les cristalloïdes, les cristaux minéraux et les noyaux. Si ces organites font défaut, il ne peut y avoir de sensibilité géotropique, c'est ce qui arrive chez les jeunes organes, chez les racines dont la coiffe est coupée, chez les racines anormales ou malades, chez les racines normales dont on parvient à éliminer les corpuscules à poids spécifique élevé.

Haberlandt (3) pense lui aussi que c'est surtout dans la couche amylacée (Starkescheide) des organes sensibles qu'il faut chercher les organites dont l'excitation cause le géotropisme. Les grains de cette couche qui n'est autre que le péricycle viennent tous se placer dans les parties inférieures des cellules quelle que soit la position de celles-ci

(1) F. Darwin : *On Geotropism and the Localization of the Sensitive Region* (Ann. of Bot. XIII, 567).

(2) Nemec : *Ueber die Ort der Wahrnehmung der Schwerkraftreizes bei den Pflanzen*. (Ber. d. deut. Bot. Gesell. XVIII, 241).

(3) Haberlandt : *Ueber Reizleitung im Pflanzenreich*. (Biol. Centralbl. XI, 369).

Digitized by Google

dans l'espace, alors qu'il n'en est nullement ainsi pour les grains des cellules de la moelle dans les nœuds des tiges articulées (Graminées, Caryophyllées, Polygonées). L'auteur pense qu'il doit exister dans les cellules de cette couche qui constituent de véritables otocystes des dispositions permettant le déplacement facile des grains d'amidon ; en effet, ces grains sont tous assez gros, ce qui diminue, toutes choses égales d'ailleurs, la résistance du protoplasma, le suc cellulaire dans lequel ils sont inclus très fluide et en outre ils sont indépendants du noyau. Cette couche amylacée qui est excitable transmet l'excitation à la région motrice par l'intermédiaire des communications protoplasmiques.

Noll (1) admet cette conception de l'irritabilité géotropique, mais pour lui, c'est le plasma lui-même qui est sensible ou plutôt des éléments de ce plasma non encore décrits, analogues par exemple à des centrosphères.

Cet auteur est d'autre part en contradiction avec Czapeck au sujet de la courbure géotropique des racines. Il admet que la plante sur le clinostat peut éprouver l'excitation géotropique ; selon lui, la rotation est suffisamment lente pour que des excitations se produisent et s'additionnent.

Czapeck a trouvé qu'à la suite de l'excitation géotropique il se forme dans les cellules de l'écorce une substance réduisant le nitrate d'argent ammoniacal ; cette substance, analogue peut-être au chromogène découvert par Pfeffer dans la racine de la Fève, se forme bien avant que la courbure n'apparaisse. D'autre part la quantité d'oxydase diminue. Il semble que cela soit dû à une augmentation de l'activité respiratoire consécutive à l'excitation.

(1) Noll : *Ueber Geotropismus* (Jahrb. f. wiss. Bot. XXXIV, 457, 1900).

Ed. Griffon.

Digitized by Google

TABLE DES ARTICLES ORIGINAUX

Pages

Contribution à l'étude des Protococcacées (avec vingt-cinq figures dans le texte), par M. Jean Grintzesco.

Introduction 5
I. Historique et Bibliographie 6
II. Biologie et dissémination de *Chlorella vulgaris* Beyer 9
III. Développement de *Chlorella vulgaris* . . . 11
IV. Cultures sur agar-agar 15
V. Cultures sur gélatine 67
VI. Cultures sur plaques poreuses. 71
VII. Cultures dans des milieux liquides 72
VIII. Influence de la lumière et de l'obscurité. . . 73
IX. Influence de la température 75
X. Cultures dans le vide 76
Conclusions générales 77

La photosynthèse chlorophyllienne en dehors de l'organisme (avec deux figures dans le texte), par M. Luigi Macchiati. 20

Influence des blessures sur la respiration normale et intramoléculaire (fermentation) des bulbes (avec huit figures dans le texte), par M. S. Smirnoff. 26

I. Exposé des expériences. 27
II. Respiration intramoléculaire 32
Conclusions 38

Recherches cytologiques sur les levures (avec trente-sept figures dans le texte et neuf planches, Pl. 1 à 9), par M. A. Guilliermond.

I. Introduction 49

Digitized by Google

Pages

II. Structure des cellules 54
III. Sporulation 104
IV. Phénomènes sexuels. 111
V. Corpuscules métachromatiques 166
VI. Conclusions 174

Observations sur les glandes pétiolaires du *Viburnum Opulus* (avec six figures dans le texte), par M. M. Thouvenin. . 98

Observations biologiques sur la végétation automnale des environs d'Alger, par M. Maige 145

Recherches sur quelques réactions des membranes lignifiées, par M. L. Géneau de Lamarlière. 149, 221

Sur le siège de quelques principes actifs des végétaux pendant le repos hibernal, par M. W. Russell. 160

Recherches sur la fermentation propre (avec neuf figures dans le texte et quatre planches, Pl. 10 à 13), par MM. L. Matruchot et M. Molliard. 193

I. Partie expérimentale 195
II. Étude cytologique 253, 310
Conclusions 321

Sur la relation entre les caractères des hybrides et ceux de leurs parents, par M. Hugo de Vries 241

Étude sur les caractères propres à distinguer les diverses variétés de l'*Avena sativa* (avec quatorze figures dans le texte), par MM. Dufour et Dassonville 289

Tératologie et traumatisme (avec six figures dans le texte et une planche, Pl. 14), par M. M. Molliard.

I. *Matricaria inodora* 337
II. *Senecio Jacobæa* 341

Recherches chimiques et physiologiques sur la digestion des mannanes et des galactanes par la séminase chez les végétaux, par M. Henri Hérissey.

Introduction 345

Digitized by Google

Pages

I. Aperçu général sur la nature chimique des réserves alimentaires étudiées au cours de ce travail 348

II. Transformation diastasique des mannanes et des galactanes. 356, 369

III. Observations sur le mécanisme et la transformation des mannanes et des galactanes en mannose et en galactose, sous l'influence de la séminase 385, 406

IV. Application des connaissances acquises aux phénomènes observés chez les végétaux dans l'utilisation physiologique des mannanes et des galactanes. 444

Conclusions 462

Influence du potassium sur la morphologie du *Sterigmatocystis nigra* (avec une planche, Pl. 17), par MM. M. Molliard et H. Coupin 401

Le témoignage historique des plantes halophiles dans la région du Marquenterre (avec quatre cartes dans le texte), par M. M. Molliard 433

L'influence des agents externes sur la division des noyaux dans les racines de *Vicia Faba* (avec deux planches, Pl. 15 et 16), par M. V. Sabline. 481

Digitized by Google

TABLE DES REVUES

DES TRAVAUX FRANÇAIS ET ÉTRANGERS

Pages

Revue des travaux de physiologie et de chimie végétales parus de 1893 à 1900, par M. E. Griffon (*Fin*).

V. Échanges gazeux 90, 138, 275
VI. Le développement 283, 418
VII. L'irritabilité. 420, 464, 498

Revue des travaux de paléontologie végétale publiés dans le cours des années 1897-1900, par M. R. Zeiller (*Fin*).

II. Organismes problématiques et végétaux inférieurs (*Suite*).

C. Champignons. 39
D. Muscinées. 40

III. Végétaux paléozoïques.

A. Étude des flores paléozoïques 41, 82
B. Études spéciales des groupes de végétaux paléozoïques 86, 125
C. Études relatives au mode de formation des couches de houille 186

IV. Végétaux secondaires antécrétacés . . 187, 235, 328

V. Végétaux crétacés et postcrétacés.

A. Période crétacée 330
B. Période tertiaire 393, 470
C. Période quaternaire 475

Digitized by Google

TABLE DES PLANCHES

CONTENUES DANS LE TOME QUINZIÈME

PLANCHES 1 à 9. Structure des levures.

PLANCHES 10 et 11. Fermentation propre : *Cucurbita*.

PLANCHE 12. — : *Cucurbita ; Beta*.

— 13. — : *Allium ; Malus ; Mucor*.

— 14. *Senecio Jacobæa :* inflorescence tératologique et inflorescence normale.

PLANCHES 15 et 16. *Vicia Faba :* influence des agents externes sur la division des noyaux dans les racines.

PLANCHE 17. *Sterigmatocystis nigra*.

Digitized by Google

TABLE DES ARTICLES ET DES REVUES

PAR NOMS D'AUTEURS

Pages

COUPIN (H.). (Voyez Molliard.)

DASSONVILLE et DUFOUR (L.). Étude sur les caractères propres à distinguer les diverses variétés de l'*Avena sativa*. . . 289

DUFOUR (L.) (Voyez Dassonville.)

GÉNEAU DE LAMARLIÈRE (L.) Recherches sur quelques réactions des membranes lignifiées . 149, 221

GRIFFON (E.). Revue des travaux de physiologie et de chimie végétales parus de 1893 à 1900 (*suite*). 90. 138, 275, 418, 498

GRINTZESCO (Jean). Contribution à l'étude des Protococcacées : *Chlorella vulgaris* 5, 67

GUILLIERMOND (A.). Recherches cytologiques sur les levures. 49, 104, 166

HÉRISSEY (Henri). Recherches chimiques et physiologiques sur la digestion des mannanes et des galactanes par la séminase chez les végétaux. 345, 369, 406, 444

MACCHIATI (Luigi). La photosynthèse chlorophyllienne en dehors de l'organisme. 20

MAIGE. Observations biologiques sur la végétation automnale des environs d'Alger 145

MATRUCHOT (L.) et MOLLIARD (M.). Recherches sur la fermentation propre . 193, 253, 310

Digitized by Google

Pages

MOLLIARD (M.). Tératologie et traumatisme. 337

— Le témoignage historique des plantes halophiles dans la région du Marquenterre . 433

— (Voyez Matruchot.)

— et COUPIN (H.). Influence du potassium sur la morphologie du *Sterigmatocystis nigra* 401

RUSSELL (W.). Sur le siège de quelques principes actifs des végétaux pendant le repos hivernal. . . 160

SABLINE (V.). L'influence des agents externes sur la division des noyaux dans les racines de *Vicia Faba*. 481

SMIRNOFF (S.) Influence des blessures sur la respiration normale et intramoléculaire (fermentation des bulbes) 26

THOUVENIN (M.). Observations sur les glandes pétiolaires du *Viburnum Opulus*. 97

VRIES (Hugo de). Sur la relation entre les caractères des hybrides et ceux de leurs parents. . 241

ZEILLER (R.). Revue des travaux de paléontologie végétale publiés dans le cours des années 1897-1900. 39, 83, 125, 186, 235, 328, 393, 470

Digitized by Google

TABLE ALPHABÉTIQUE

DES NOMS D'AUTEURS DONT LES TRAVAUX ONT ÉTÉ ANALYSÉS DANS LES REVUES DES TRAVAUX FRANÇAIS ET ÉTRANGERS

Explication des abréviations : (*p*) Revue des travaux de paléontologie végétale; (*ph*) Revue des travaux de physiologie et de chimie végétales.

A

Pages

Abbado (M.) (*p*) 83
Alinera (J.) (*p*) 396
Amalitzky (W) (*p*) 85
Amaturi (N.) (*p*). 40
Ami (H. M.) (*p*) 44
Andersson (G.) (*p*) 479
André et Berthelot (*ph*) . . 277
Andrews (A. J.) (*p*). . . . 85
Archenegg (A. Noé v.) (*p*) . . 400

B

Baltzer (A.) (*p*) 476
Barber (C. A.) (*p*) 331
Bartholin (C.) et Rordam (K.) (*p*) 236
Bayer (E.) (*p*) 40, 332
Beck (R.) et Weber (C. A.) (*p*). 476
Belzung (*ph*). 91, 420
Benecke (E. W.) (*p*) . . . 188
Berthelot (*ph*) 148
Berthelot et André (*ph*) . . 277
Bertrand (C.-E.) (*p*). 133, 135, 137
Bertrand (C. E.), Cornaille (F.) et Hovelacque (M.) (*p*) . . 133
Beyschlag (F.) et Fritsch (K. v.) (*p*) 48
Blackmann (*ph*). 92
Bonarelli (G.) (*p*) 332
Bonnier (G.) (*ph*) . . 139, 424
Boulay (Abbé) (*p*) 395
Bourquelot et Hérissey (*ph*) . 418
Bower (F. O.) (*p*) 87
Briquet (*ph*) 431
Britton (E. G.) (*p*) 40
Bureau (Ed.) (*p*) 43, 192
Butterworth (J.) (*p*) . 40, 88, 137

C

Cannon et Davenport (*ph*). . 429
Chalmot (G. de) (*ph*) . . . 287
Chauveaud (*ph*) 424
Chudiakow (de) (*ph*). . . . 280
Clerici (E.) (*p*) 476
Coleman (A. P.) et Penhallow (D. P.) (*p*) 479
Cornaille (F.), Bertrand (C. E.) et Hovelacque (M.) (*p*) . . 133
Correns (*ph*) 425
Coupin (*ph*) 284, 287
Coy (F. Mac) (*p*). 85
Csérer (*ph*) 287
Curtel (*ph*) 431
Czapeck (*ph*). . 431, 465, 467, 498

D

Dale (*ph*) 427
Darwin (F.) 499
Davenport et Neal (*ph*) . . 422
Davenport et Cannon (*ph*). . 429
Dawson (sir J. W.) (*p*). . . 131
Deane (H.) (*p*) 474

Digitized by Google

Pages
Delheid (E.) (*p*) 394
Demoor (*ph*) 421
Devaux (*ph*) . . . 142, 143, 281
Draper (D.) (*p*) 85
Duclaux (*ph*). . . . 142, 144
Dun (W. S.) (*p*) . . 42, 44, 84, 474
Dusén (P.) (*p*) 473

E

Elfving (*ph*) 428
Engelhardt (H.) (*p*) 40, 396, 398, 400
Engelhardt (H.) et Vanhoffen (E.) (*p*) 333, 470
Engelmann (*ph*) 421
Etheridge (R.) (*p*) 88
Ettingshausen (C. von) (*p*) . 399
Ewart (*ph*) 92, 423

F

Fellenberg (E. v) (*p*) 42
Figdor (*ph*) 430
Fliche (P.) (*p*). . 83, 189, 330, 331 336, 395, 396, 470, 475, 476
Folseniusz et Godlewski (*ph*). 144
Fontaine (W. M.) (*p*) . . . 333
Fritel (P. H.) (*p*). 394
Fritsch (K. v) (*p*) 43
Fritsch (K. v.) et Beyschlag (F.) (*p*) 48

G

Gain (*ph*). 283
Gasparis (A. de) (*p*). 40
Geinitz (H. B.) (*p*) 128
Géneau de Lamarlière (L.) (*ph*) 94
Gerber (*ph*) 279
Godlewski (*ph*) 468
Godlewski et Folseniusz (*ph*). 144
Gowan (miss J.) et Seward (A.C.) (*p*) 191
Graf zu Solms-Laubach (H.) (*p*). 125, 128, 187
Graf zu Solms-Laubach (H.) et Steinmann (G.) (*p*) . . . 189

Pages
Grand'Eury (C.) (*p*). . . 128, 136
Green (*ph*) 420
Griffon (*ph*) . . . 93, 94. 139, 141
Grigoriew (N.) (*p*) . . . 48, 236
Guébhard (A.) (*p*) 395

H

Haberlandt (*ph*). . . . 424, 499
Hartz (N.) (*p*) 478
Hegler (*ph*) 427
Heinrich (*ph*). 282
Hérissey et Bourquelot (*ph*) . 418
Herlin (R.) (*p*) 478
Herrera (*ph*) 422
Hill (A.W.) et Seward (A.C.) (*p*) 136
Hill (G.) et Scott (D. H.) (*p*). . 188
Hjórth (A.) (*p*) 189
Hofmann (A.) et Riba (F.) (*p*). 41
Hollick (A.) (*p*) . 334, 394, 471, 472
Hovelacque (M.), Bertrand (C. E.) et Cornaille (F.) (*p*) . . 133
Hulth (J. M.) (*p*). 478

J

Jarius (*ph*) 287
Jeffrey (E. C.) (*p*) . . . 129, 130
Jodin (*ph*). 283, 286
Jönssen (*ph*). 277
Jönssön (*ph*). 287

K

Kaunhowen (F.) (*p*). 41
Keilbach (K.) (*p*) 477
Keller (R.) (*p*) 40, 398
Kerner (F. von) (*p*). . . 43, 46
Kidston (R.) (*p*). . . 42, 45, 135
Kinkelin (F.) (*p*): 398
Kirchner (W. G. G.) (*p*) . . 471
Kjellmark (K.) (*p*) 478
Knowlton (F. H.) (*p*). 189, 335, 336 470, 471, 472
Kny (*ph*) 92
Krabbe et Schwendener (*ph*) . 468
Krasan (F.) (*p*) 400
Krasser (F.) (*p*) . . . 44, 83, 190

Digitized by Google

Pages

Kühne (W.) (*ph*). 422
Kurtz (F.) (*p*). 336

L

Langeron (*p*). 393
Laurent (L.) (*p*) 395, 474
Laurent (L.) et Marion (A.F.) (*p*) 400
Leclerc du Sablon (*ph*). . 288, 418
Lecomte (H.) (*ph*) 282
Lester F. Ward (*p*) 188, 189, 333, 335
Leyh (C. F.) (*p*) 43
Lima (W. de) (*p*). 332
Lindgren (W.) (p) 472
Loeb (ph) 426, 429
Lomax (J.) (*p*) 126
Lomax (J.) et Will (G.) (*p*). . 134
Longhi (P.) (*p*) 397
Loomis (F. B.) (*p*) 39
Ludloff (*ph*) 426

M

Mac Dougal (*ph*). 424
Macnair (P.) et Reid (J.) (*p*) . 42
Maige (A.) 431
Maire (R.) (*p*) 236
Maldiney et Thouvenin (*ph*) . 288
Mangin (L.) (*ph*). . . . 278, 286
Maquenne (*ph*) . 143, 277, 285, 288
Marion (A.F.) et Laurent (L.) (*p*) 400
Maslen (A. J.) (*p*) 133
Massart (Jean) (*ph*). . . 420, 423
Mazé (*ph*). 144, 286
Meltzer (*ph*) 423
Mendelssohn (*ph*) 428
Menzel (P.) (*p*) 398
Meschinelli (L.) (*p*) 39
Meunier (F.) (*p*). 394
Meunier (St) (*p*). 394
Miyoshi (*ph*). 421
Möbius (*ph*) 429
Morton (G. H.) (*p*) 188
Mosso (*ph*) 287
Mouton (*ph*) 427
Muller-Thurghan (*ph*) . . . 282

N

Nathorst (A. G.) (*p*). . 42, 236, 237
Neal et Davenport (*ph*). . . 422
Nemec (*ph*) 499
Newberry (J. S.) (*p*). 334, 336, 473
Newton (E. T.) et Teall (J.-J.-H.) (*p*) 237
Noll (*ph*) 499

O

Olsson (P. H.) (*p*) 478
Ottmann (*ph*) 430
Overton (*ph*). 94

P

Palladine (*ph*) . . 140, 276, 280
Pagnoul (*ph*). 283
Pawloff (A.) (*p*) 470
Penecke (K. A.) (*p*). . . . 399
Penhallow (D. P.) (*p*) . . 126, 137
Penhallow (D. P.) et Coleman (A. P.) (*p*). 479
Peola (P.) (*p*). 396, 397
Potonié (H.) (*p*) 85, 187, 190, 192, 331
Puriewitch (*ph*). 418
Putter (ph) 423

R

Ralli (G.) (*p*). 44
Raeymaekers (*p*). 394
Reid (C.) (*p*). 394, 479
Reid (J.) et Macnair (P.) (*p*). 42
Renault (B.) (*p*) . . 43, 129, 470
Renault (B.) et Roche (A) . . 136
Riba (F.) et Hofmann (A.) (*p*). 41
Richter (P.) (*p*) 331
Ricôme (*ph*) 467
Rimbach (*ph*). 467
Ristori (G.) (*p*) 397
Rivière (E.) (*p*) 476
Roche (A.) et Renault (B.) (*p*). 136
Rordam (K.) et Bartholin (C.) (*p*) 236
Rothert (*ph*).. 469
Ryba (F.) (*p*). 88

Digitized by Google

Pages

S

Schilbersky (K.) (*p*). 40
Schlechtendal (D.-H.-R. von) (*p*) 398
Schlœsing fils (*ph*) . . . 90, 288
Schmitz (G.) (*p*). 45
Schubert (C.) et White (D.) (*p*). 333
Schwendener et Krabbe (*ph*). 468
Scott (D. H.) (*p*). 89, 125, 127, 130 131, 132, 134, 136
Scott (D. H.) et Hill (G.) (*p*) . 188
Sellards (E. H.) (*p*). 84
Seward (A. C.) (*p*). 84, 85, 126, 127 130, 132. 189. 190, 235, 331
Seward (A. C.) et miss Gowan (J.) (*p*) 191
Seward (A. C.) et Hill (A. W.) (*p*) 136
Shirley (J.) (*p*) 191
Sigmund (*ph*) 286
Squinabol (S). (*p*) 397
Stahl (*ph*). 92, 94
Steinmann (G.) et Graf zu Solms Laubach (H.) (*p*) . . 189
Stenzel (K. G.) (*p*) . . . 331. 473
Sterzel (J. T.) (*p*). . . . 137, 396
Stone (*ph*) 427

T

Teall (J. J. H.) et Newton (E. T.) (*p*) 237
Teodoresco (*ph*) 139

Pages

Thouvenin et Maldiney (*ph*) . 288
Tolf (*ph*) 287
Toll (E. von) (*p*). 479

V

Vaffier (*p*). 43
Vanhöffen (E.) et Engelhardt (H.) (p) 333, 470
Vochting (*ph*) 466

W

Waller (*ph*) 423
Warburg (O.) (*p*) 473
Weber (C. A.) (*p*) . 476, 477, 479
Weber (C. A.) et Beck (R.) (*p*). 476
Werworn (*ph*). . . 421, 426, 428
Wieland (G. R.) (*p*). 240
White (D.) (*p*) . . 45, 46, 47, 135
White (D.) et Schubert (C.) (p.) 333
Wiesner (*ph*). . . 429, 430, 466
Wild (G.) (*p*). 137
Will (G.) et Lomax (J.) (*p*) . 134
Worsdell (W. C.) (*p*) 127, 128, 328

Y

Yennings (*ph*) 421

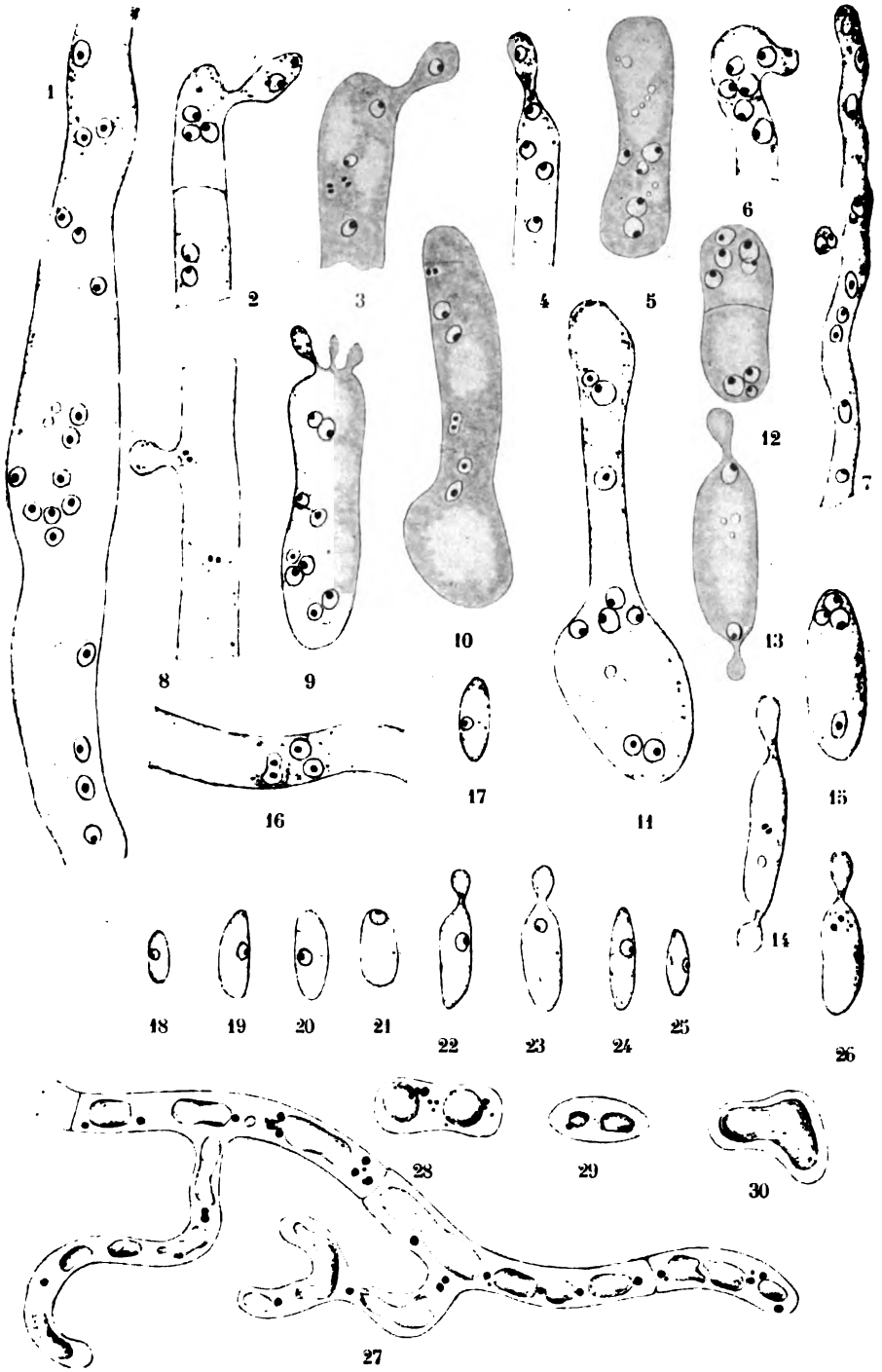
Z

Zeiller (R.) (*p*) . 41, 46, 84, 86, 126 127, 130, 131, 133, 190, 192, 474
Ziegenbein (*ph*) 281

450 — Lille, imp. La Bigot Frères. Le Gérant, Th. Clarquin.

Digitized by Google

Digitized by Google

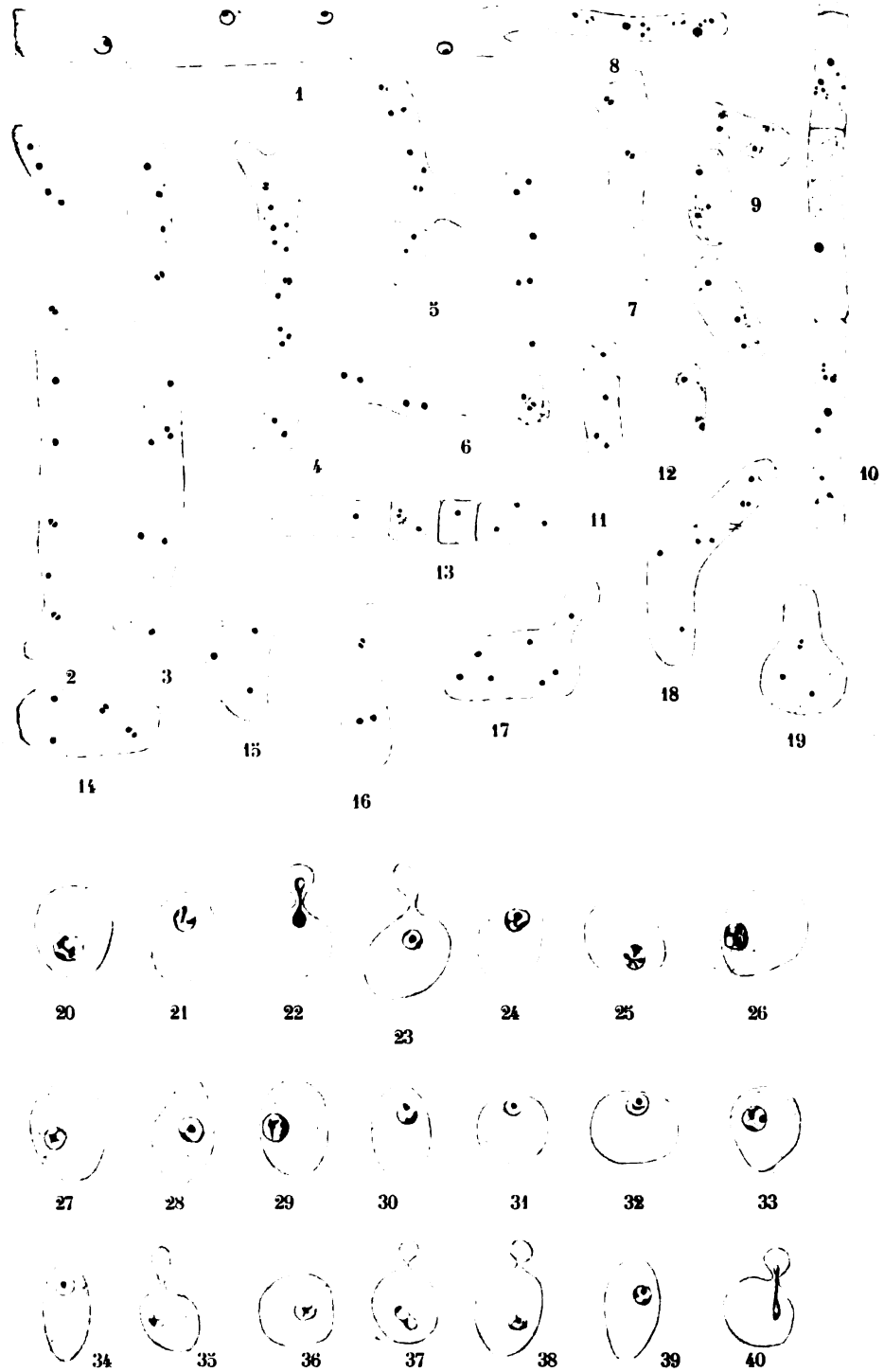


Al. Guilliermond del. *Imp. Le Bigot frères.*

Structure des Levûres

Digitized by Google

Digitized by Google

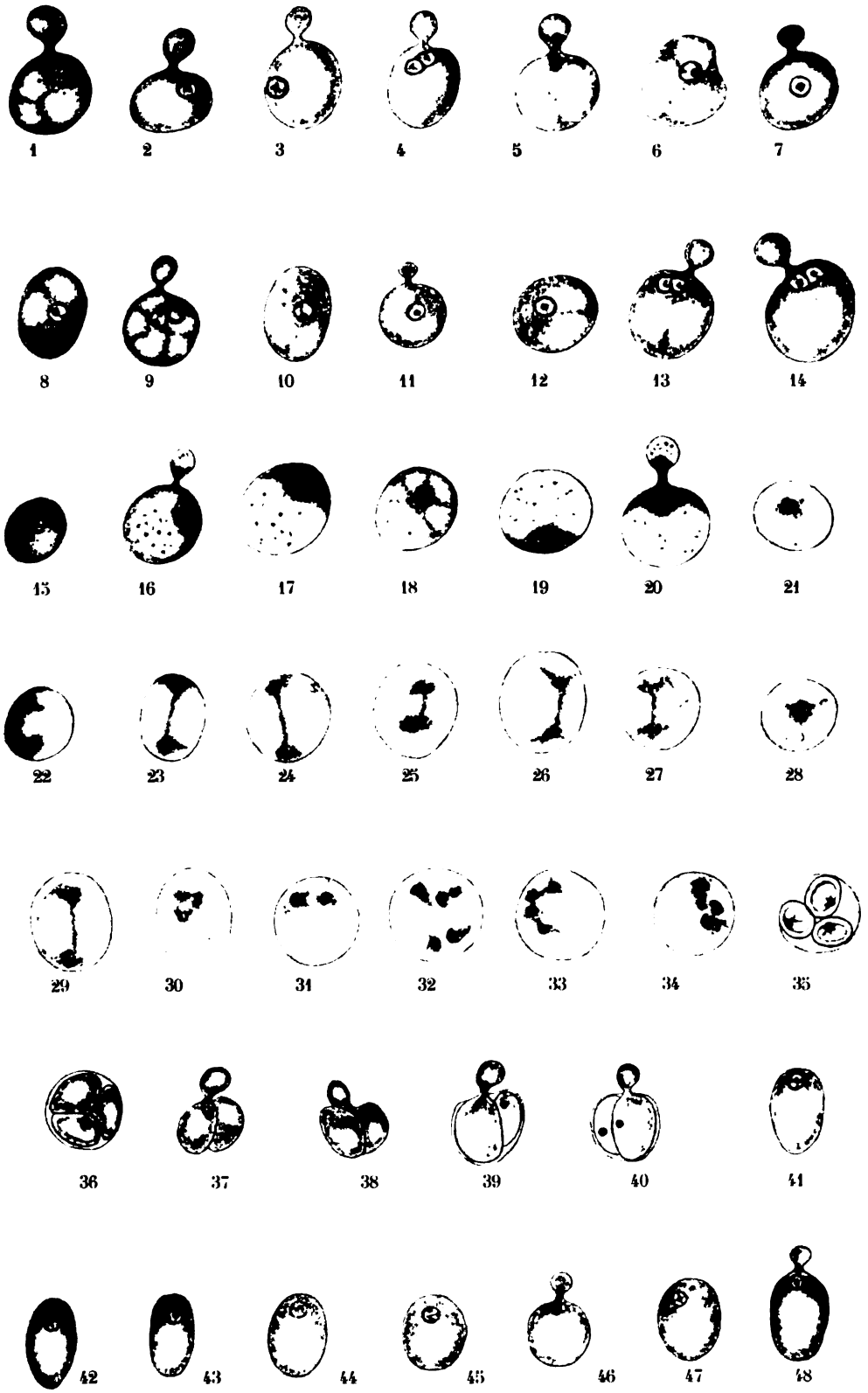


Al. Guilliermond del. *Imp. Le Bigot frères.*

Structure des Levûres

Digitized by Google

Digitized by Google

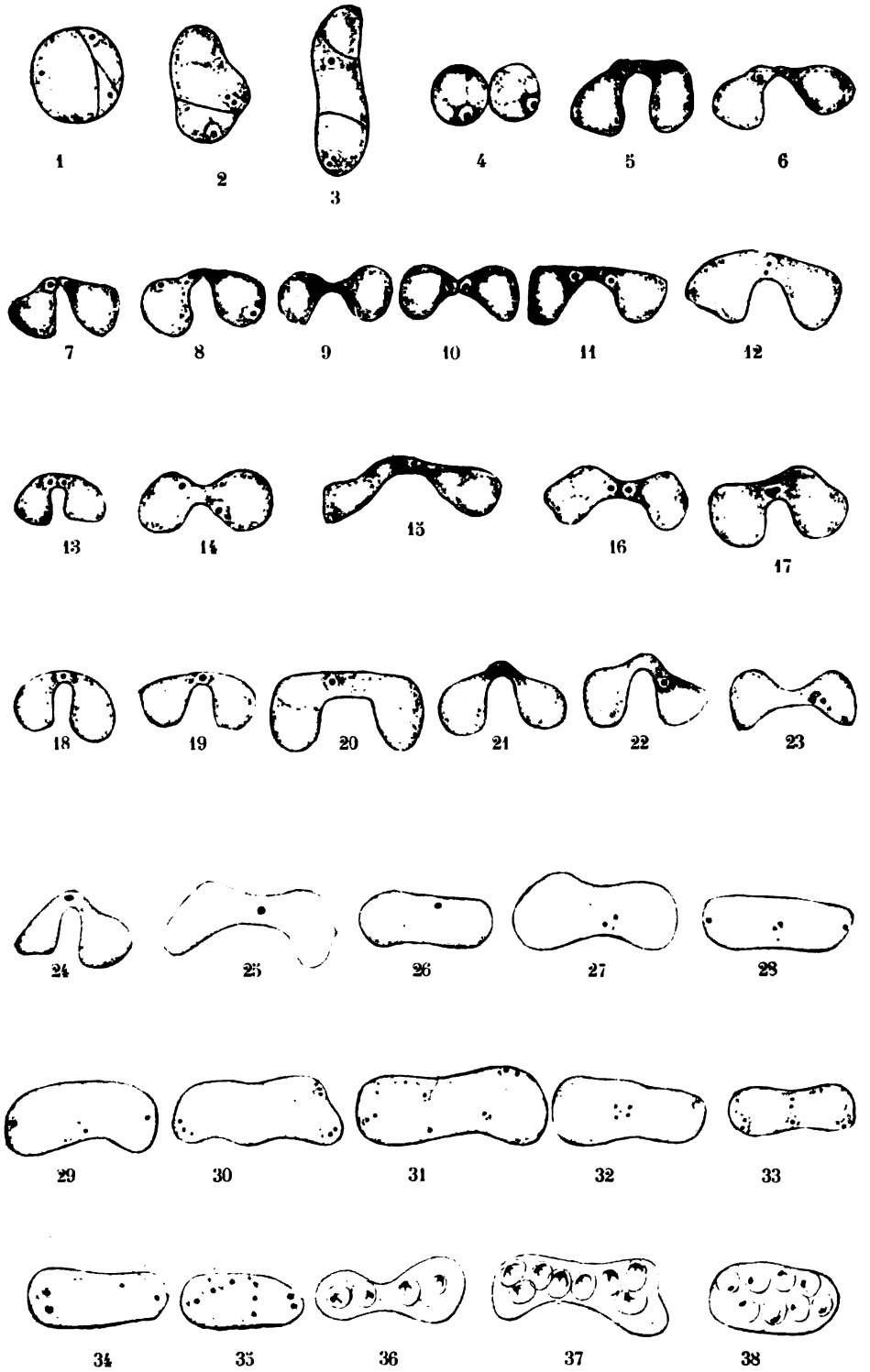


Al. Guilliermond del. *Imp. Le Bigot frères.*

Structure des Levûres

Digitized by Google

Digitized by Google

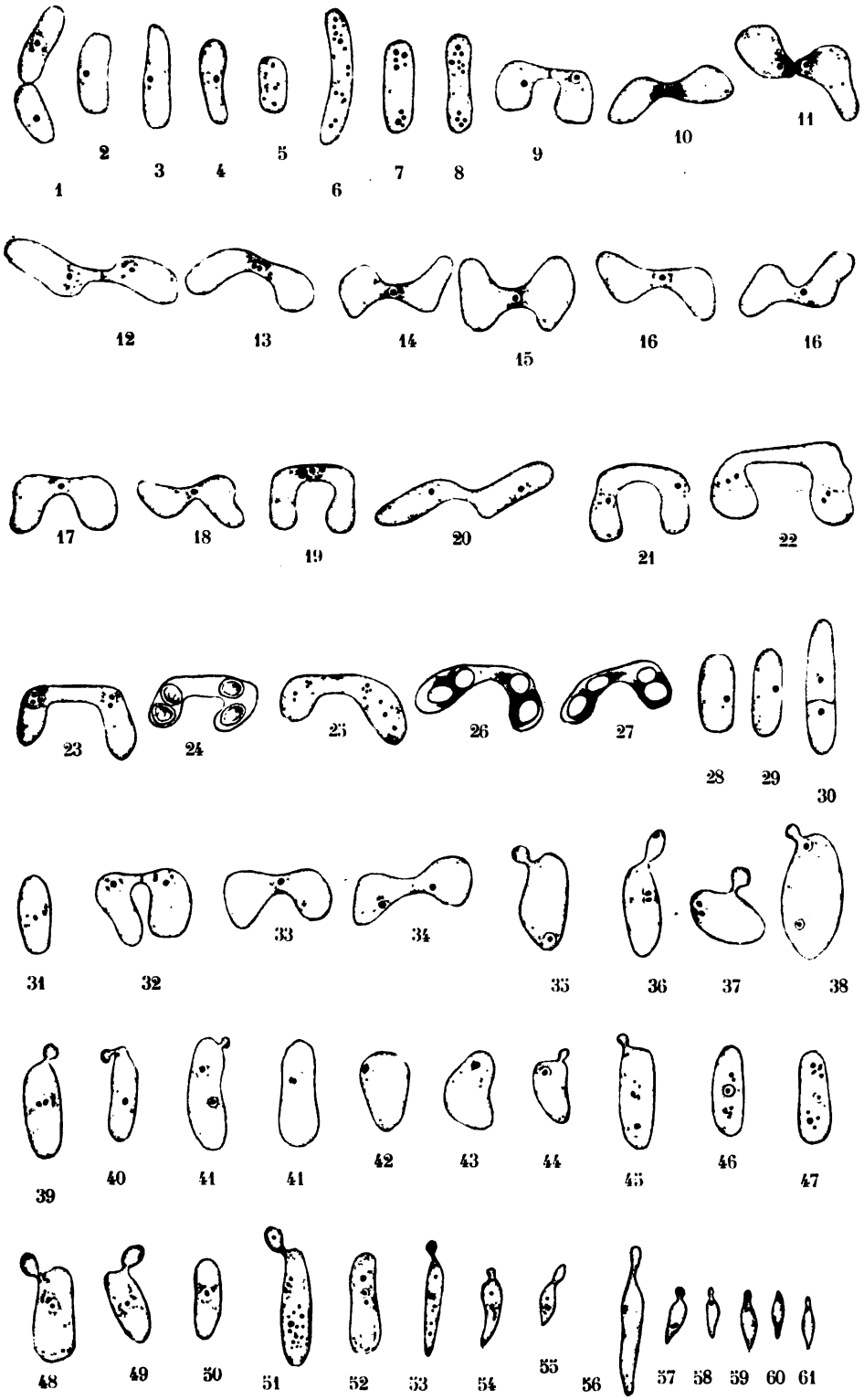


Al. Guilliermond del. *Imp. Le Bigot frères.*

Structure des Levûres

Digitized by Google

Digitized by Google

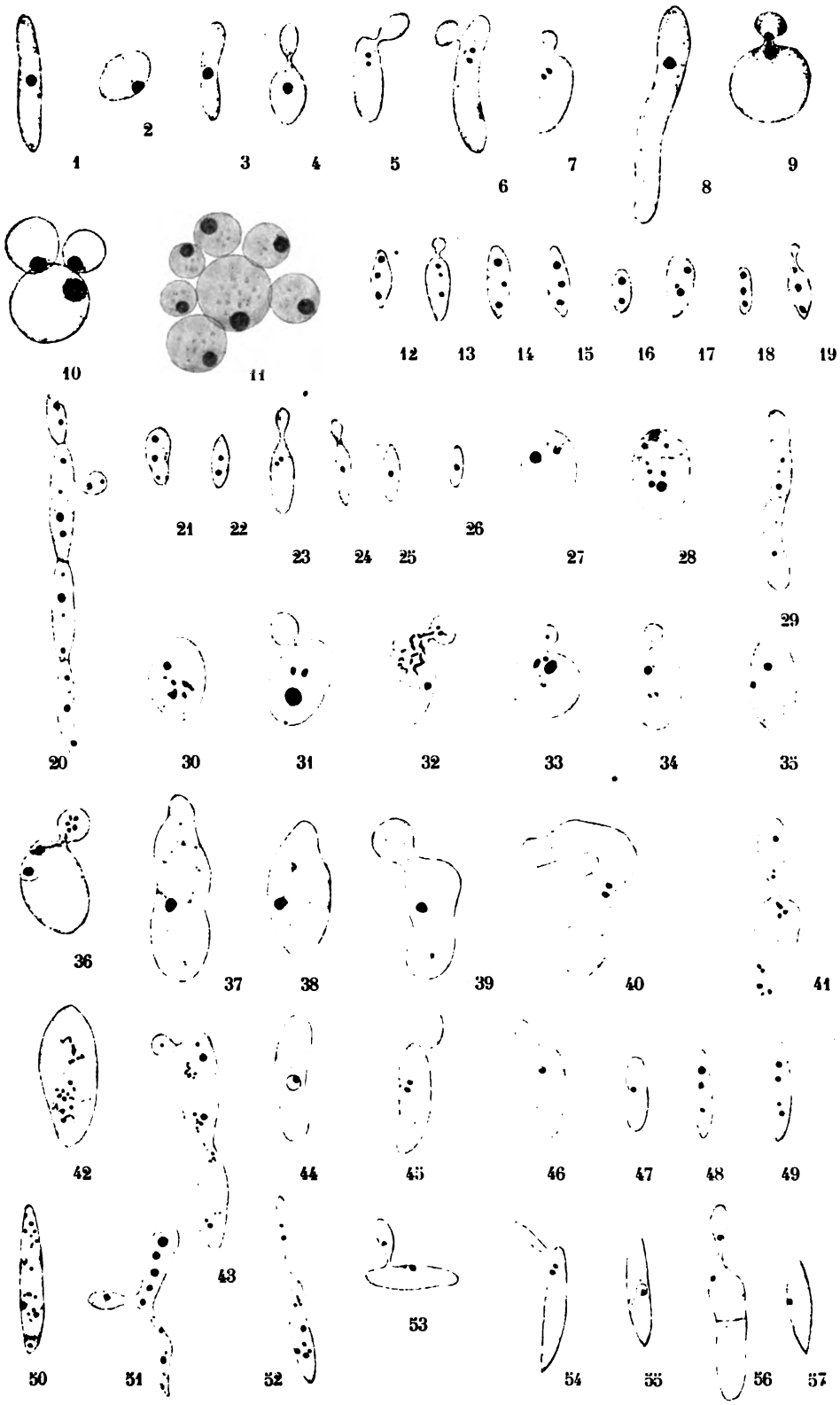


Al. Guilliermond del. *Imp. Le Bigot frères.*

Structure des Levûres

Digitized by Google

Digitized by Google

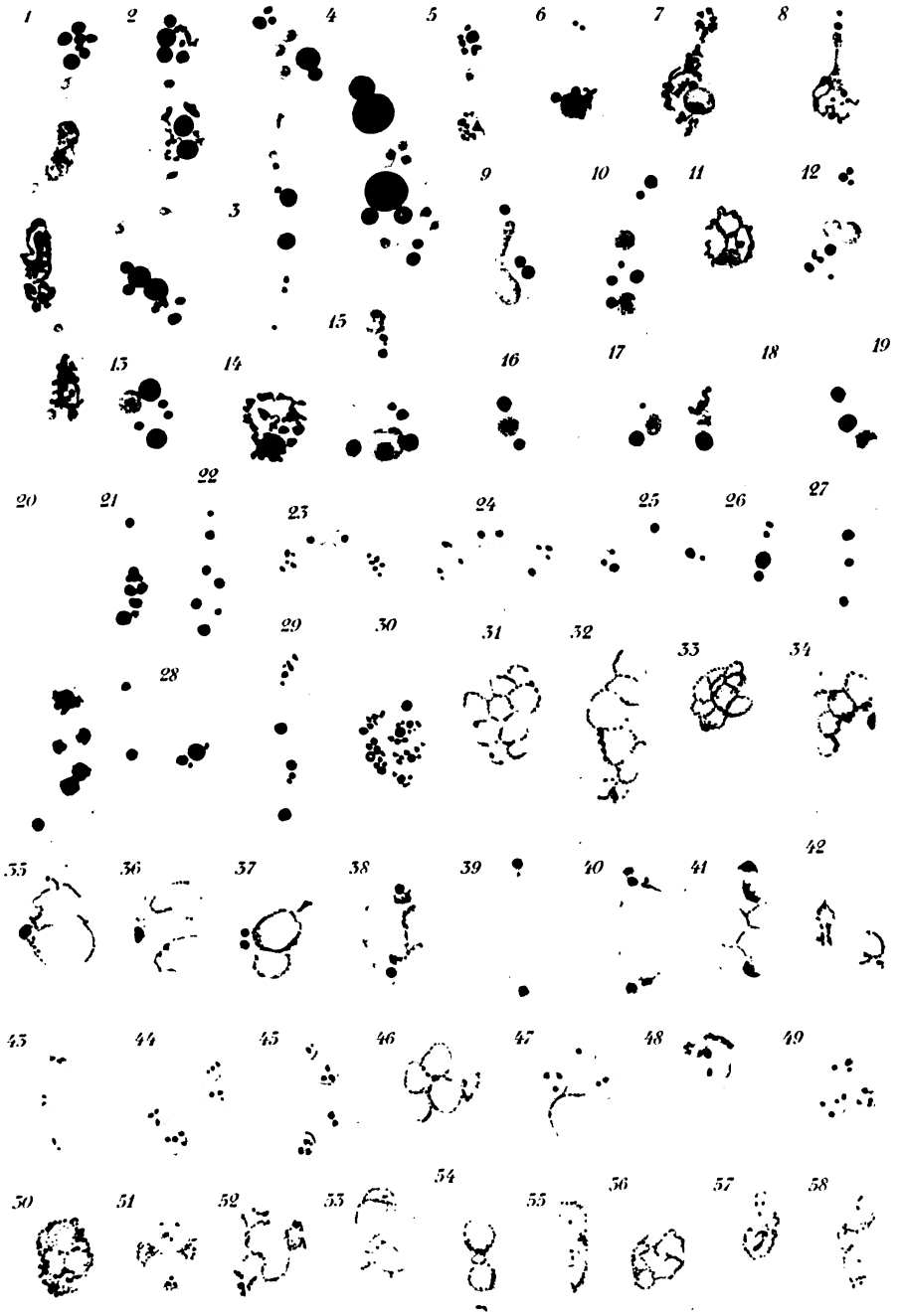


Al. Guilliermond del. *Imp. Le Bigot frères.*

Structure des Levûres.

Digitized by Google

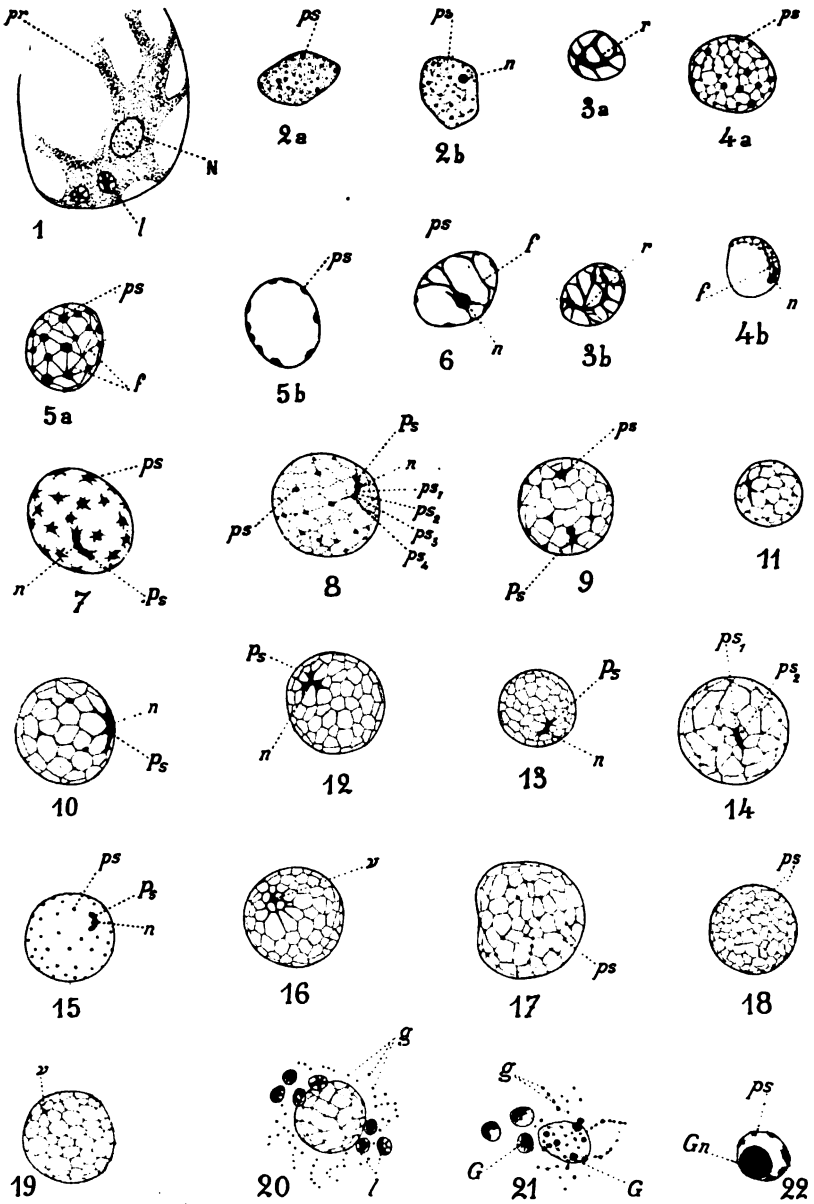
Digitized by Google



Structure des Levures

Digitized by Google

Digitized by Google



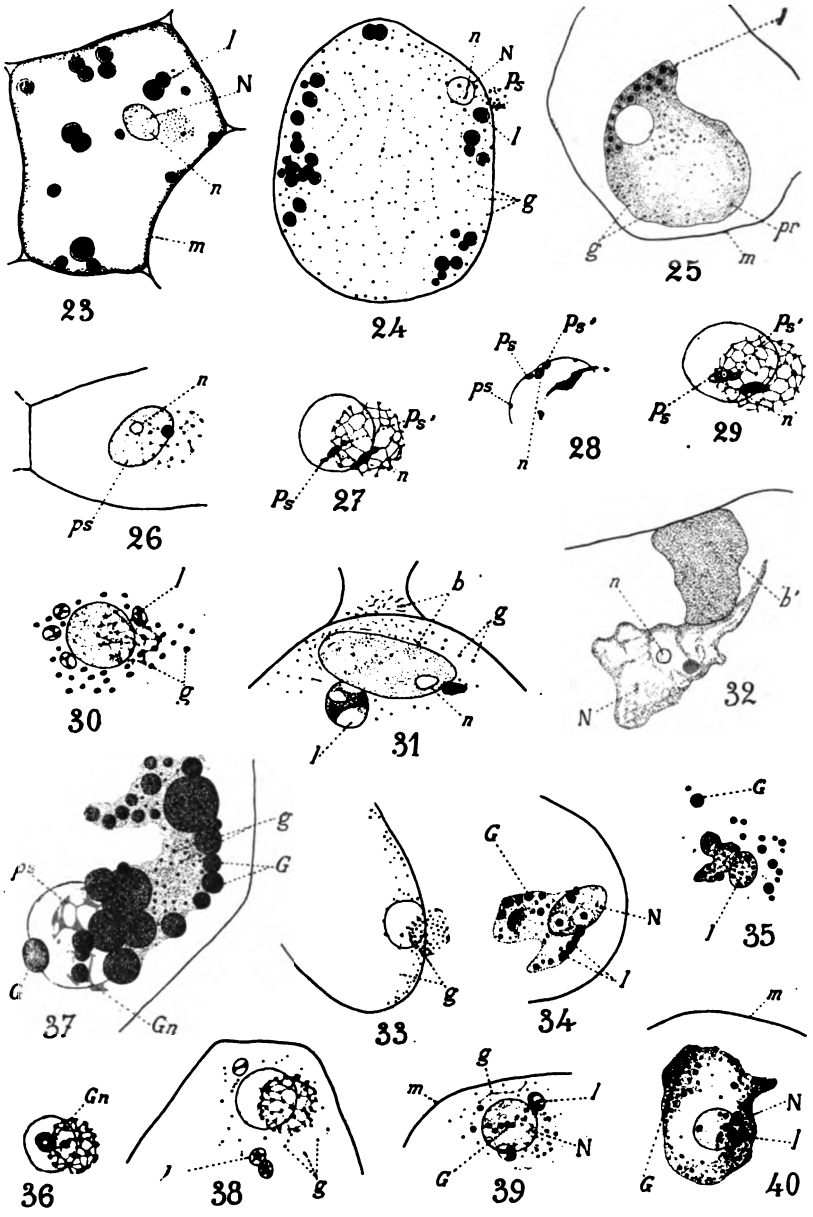
Matr. et Moll. del. Phot. Bertin et Cie

FERMENTATION PROPRE

Cucurbita

Digitized by Google

Digitized by Google



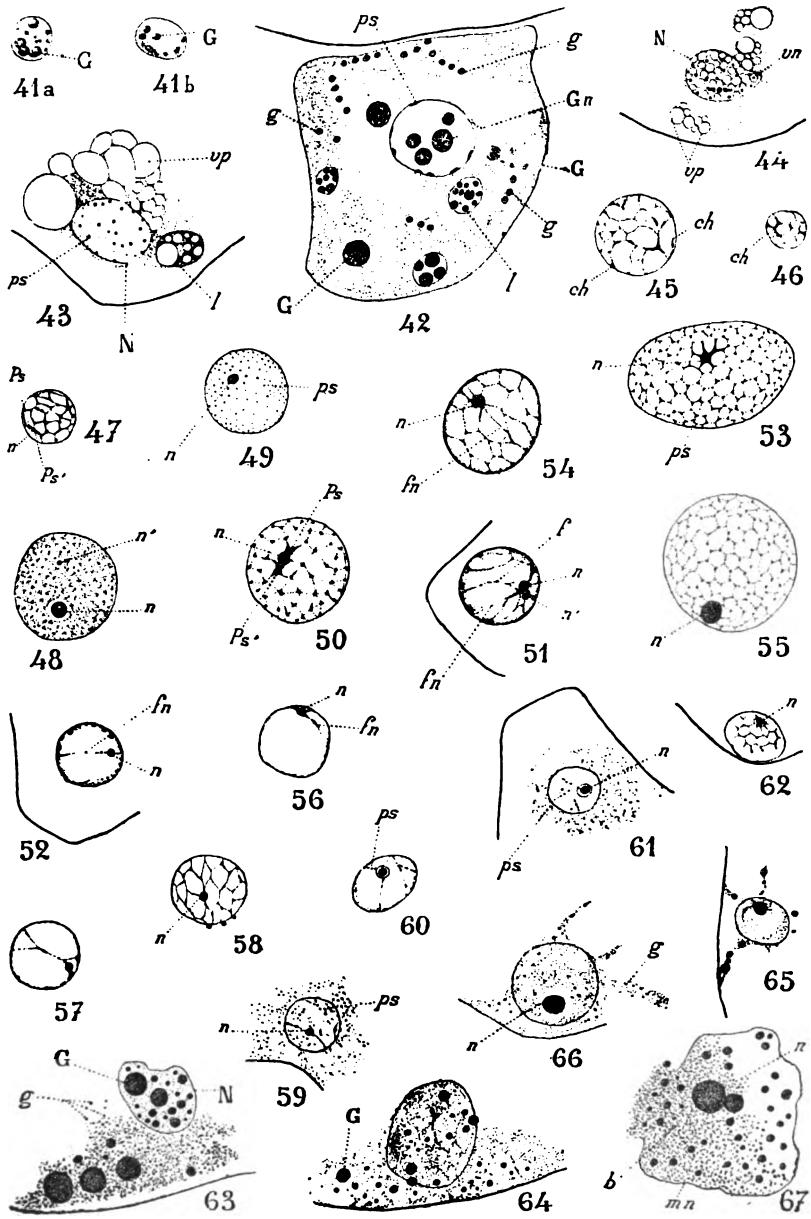
Natr. et Moll. del. *Phot. Bertin et Cie*

FERMENTATION PROPRE

Cucurbita

Digitized by Google

Digitized by Google



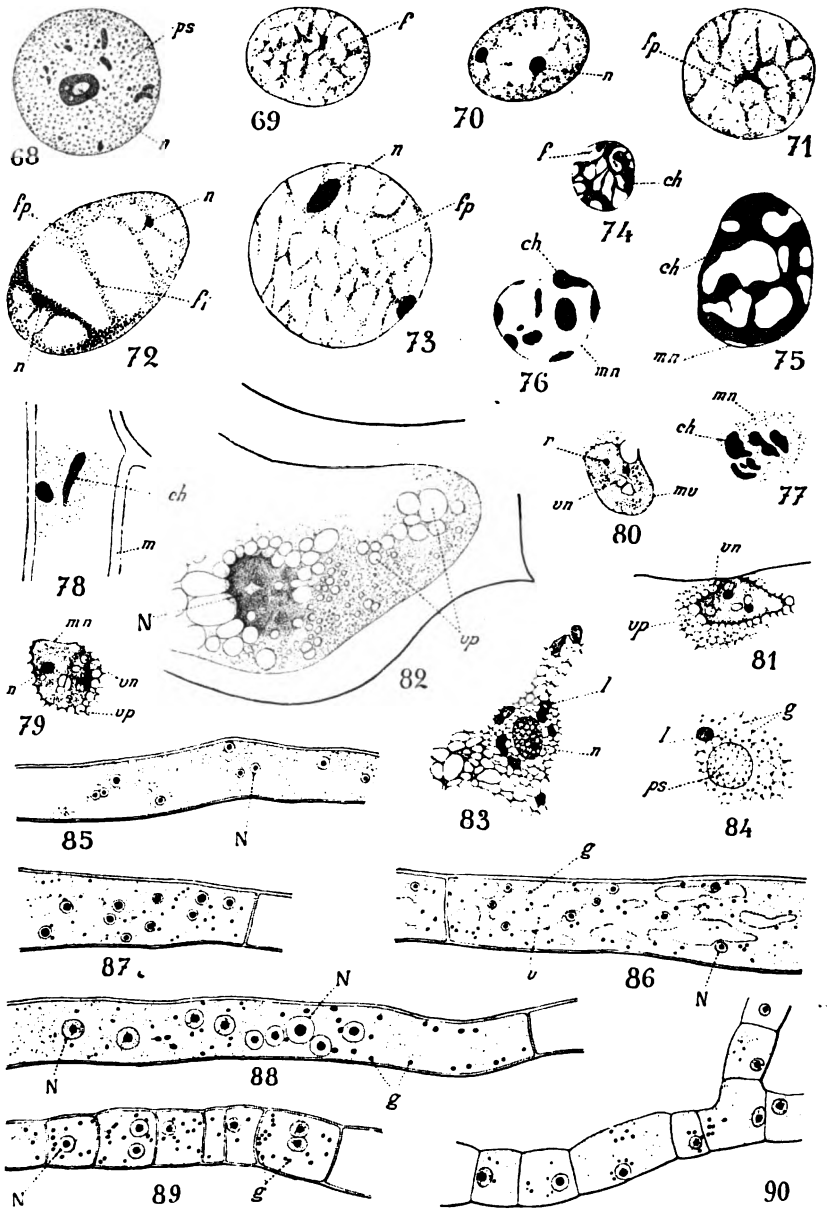
Matr. et Moll. del. Phot. Bertin et Cie

FERMENTATION PROPRE

Cucurbita (41-47); *Beta* (48-67).

Digitized by Google

Digitized by Google



Matr. et Moll. del. Phot. Bertin et Cie

FERMENTATION PROPRE

Allium (68-82); *Malus* (83-84); *Mucor* (85-90).

Digitized by Google

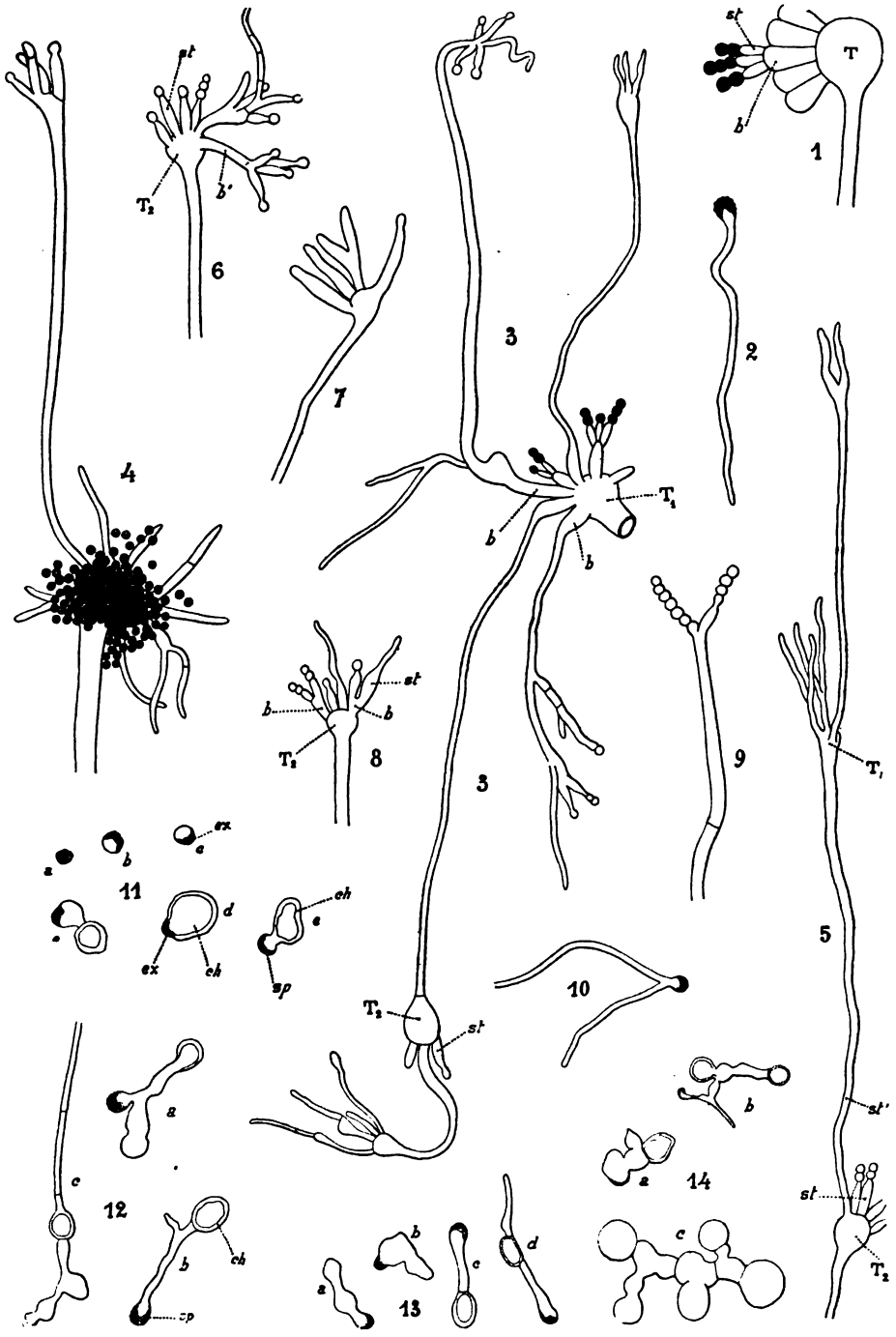
Digitized by Google

Inflorescence tératologique. **Inflorescence normale.**

Senecio Jacobæa L.

Digitized by Google

Digitized by Google



Moll. et Coup. del. Bertin sc

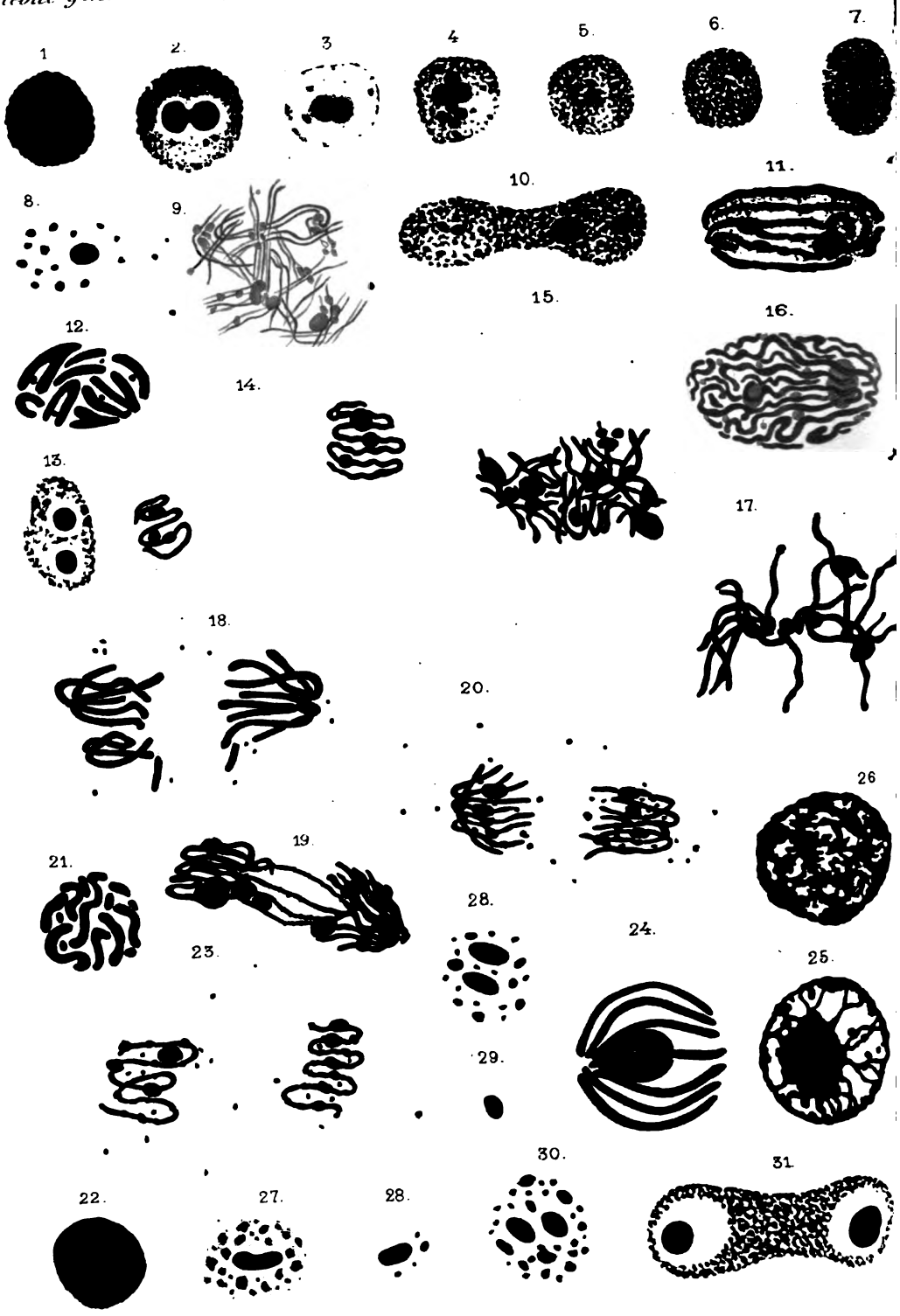
Sterigmatocystis nigra.

(Fig. 1, 2 et 10, forme normale; fig. 3 à 9, 11 à 14, Champignon privé de potassium).

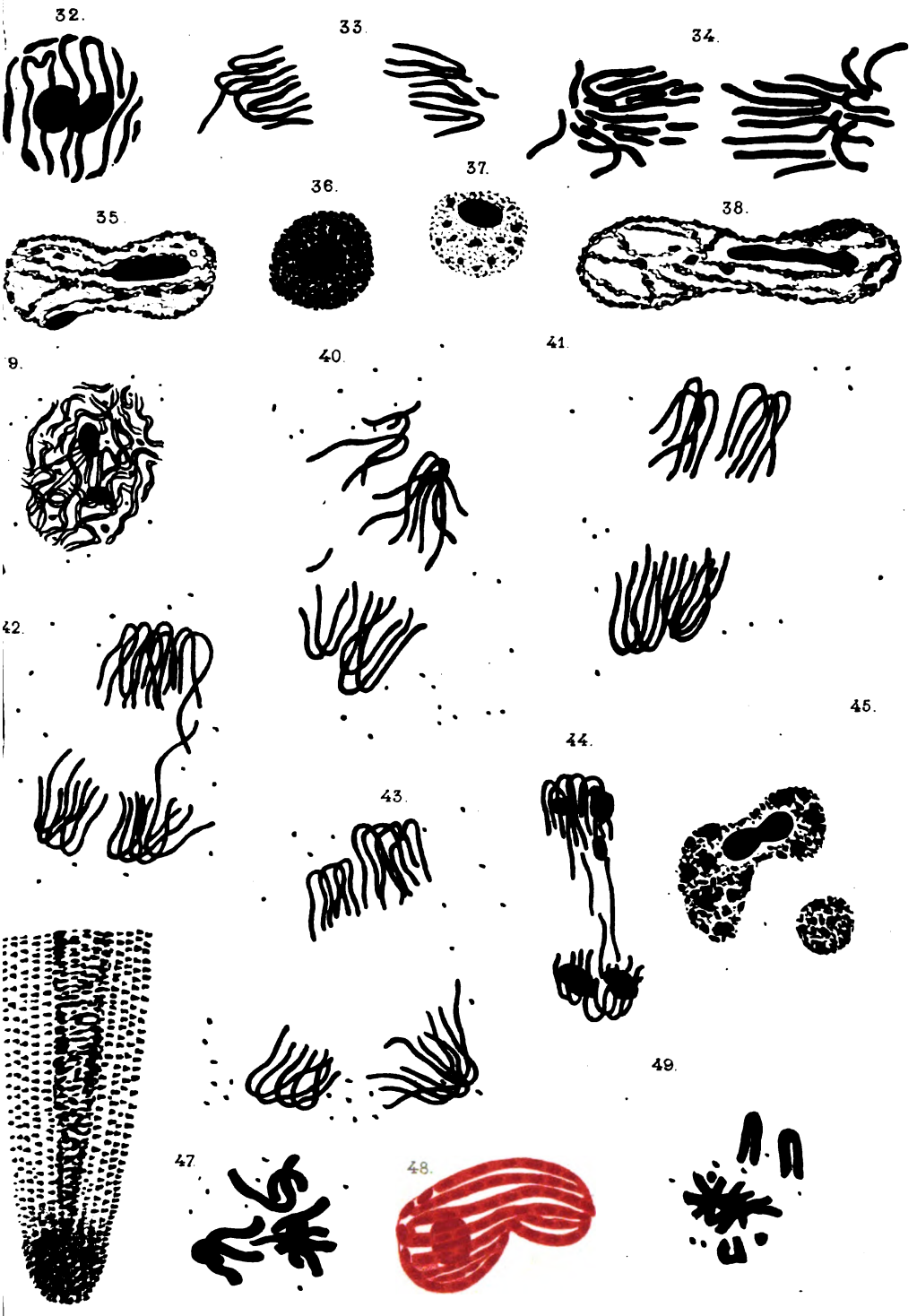
Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google



Digitized by Google



Digitized by Google

Digitized by Google

md.

GENERAL LIBRARY,
UNIV. OF MICH.
FEB 4 1904

REVUE GÉNÉRALE

DE

BOTANIQUE

DIRIGÉE PAR

M. Gaston BONNIER

MEMBRE DE L'INSTITUT,

PROFESSEUR DE BOTANIQUE A LA SORBONNE

TOME QUINZIÈME

Livraison du 15 Décembre 1903

N° 180

Entered al the New-York Post Office as Second Class matter.

PARIS
LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT
1, RUE DANTE, 1

1903

AVIS. — Ce numéro renferme la couverture du volume de 1903.

Pour ne pas éprouver de retard dans l'envoi de la *Revue*, on est prié de vouloir bien renouveler son abonnement pour 1904 en envoyant la somme de 20 francs (22 fr. 50 pour l'étranger) à M. l'Administrateur de la *Librairie générale de l'Enseignement*, 1, rue Dante, Paris (Ve). Dans le cas contraire, l'Éditeur fera présenter une quittance par la poste, le 15 Janvier 1904.

Digitized by Google

LIVRAISON DU 15 DÉCEMBRE 1903

Pages

I. — L'INFLUENCE DES AGENTS EXTERNES SUR LA DIVISION DES NOYAUX DANS LES RACINES DE *VICIA FABA* (avec planches en couleurs), par **M. V. Sabline** 481

II. — REVUE DES TRAVAUX DE PHYSIOLOGIE ET DE CHIMIE VÉGÉTALES parus de 1899 à 1900, par **M. E. Griffon** *(fin)* 498

III. — TABLES DU VOLUME DE 1903 501

PLANCHES CONTENUES DANS CETTE LIVRAISON

PLANCHES 15 et 16. — *Vicia Faba* : division des noyaux dans les racines.

Pour le mode de publication et les conditions d'abonnement voir à la troisième page de la couverture.

Digitized by Google

MODE DE PUBLICATION & CONDITIONS D'ABONNEMENT

La **Revue générale de Botanique** paraît le 15 de chaque mois et chaque livraison est composée de 32 à 48 pages avec planches et figures dans le texte.

Le prix annuel (payable d'avance) est de :

20 fr. pour Paris, les Départements et l'Algérie.
22 fr. 50 pour l'Étranger.

Aucune livraison n'est vendue séparément.

Adresser les demandes d'abonnements, mandats, etc., à M. l'Administrateur de la LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT, 1, rue Dante, à Paris.

Adresser tout ce qui concerne la rédaction à M. Gaston BONNIER, professeur à la Sorbonne, 15, rue de l'Estrapade, Paris.

Il sera rendu compte dans les revues spéciales *des ouvrages, mémoires ou notes dont un exemplaire aura été adressé au Directeur de la Revue générale de Botanique. De plus l'ouvrage envoyé sera annoncé immédiatement sur la couverture.*

Les auteurs des travaux insérés dans la *Revue générale de Botanique* ont droit gratuitement à vingt-cinq exemplaires en tirage à part.

RÉCENTES PUBLICATIONS BOTANIQUES

CHODAT : *Plantae Hasslerianae, soit énumération des plantes récoltées au Paraguay par le Dr Emile Hassler, d'Aarau (Suisse), de 1885-1895, et déterminées par le Prof. Dr R. Chodat, avec l'aide de plusieurs collaborateurs.* Première partie. Genève (Extraits du Bulletin de l'Herbier Boissier, 1898-1902).

— : *Les dunes lacustres de Sciez et les Garides. Études de géobotanique* (Bulletin de la Société botanique suisse. Berne, 1902).

— et PAMPANINI : *Sur la distribution des plantes des Alpes austro-orientales et plus particulièrement d'un choix de plantes des Alpes cadoriques et vénitiennes* (Le Globe, journal géographique, t. XLI. Genève, 1902).

— et WILCKEK : *Contributions à la flore de la République Argentine* (Bulletin de l'Herbier Boissier. 1902).

JUMELLE : *Les plantes à caoutchouc et à gutta. Exploitation, culture et commerce dans tous les pays chauds.* Paris, Challemel, 1903.

CURTEL : *La vigne et le vin chez les Romains.* Paris, Naud, 1903.

ALLEN : *The Early Stages of Spindle-Formation in the Pollen-Mother-Cells of Larix* (Annals of Botany, march 1903).

WILLIS and BURKILL : *Flowers and Insects in Great Britain* (Ibid.).

— : *Observations on the Natural Orders Dipsaceae, Plumbaginaceae, Compositae, Umbelliferae and Corneaceae, made in the Clova Mountains* (Ibid.).

MIYAKE : *On the Development of the Sexual Organs and Fertilization in Picea excelsa* (Ibid.)

Digitized by Google

HOWARD : *On some Diseases of the Sugar-Cane in the West Indies* (Ibid.)

HILL and FREEMAN : *The Root-Structure of Dioscorea prehensilis* (Ibid.)

ARBER : *On the Roots of Medullosa anglica* (Ibid.)

THISELTON-DYER : *Morphological Notes. IX. A Kalanchoe Hybrid* (Ibid.).

BIRGER NILSON : *Zur Entwickelungsgeschichte, Morphologie und Systematik der Flechten.* Lund, 1903.

ASTRUC : *Recherches sur l'acidité végétale* (Annales des Sciences naturelles Botanique, t. XVII, n° 1. 1903).

HEIM : *Notes et études sur les productions et les cultures coloniales.* Paris, 1902.

— : *Dipterocarpaceae* (in Flora of Koh Chang). Copenhague, 1902.

SAINT-LAGER : *La perfidie des homonymes. Aloès purgatif et bois d'aloès aromatique.* Lyon, 1903.

VINES : *Proteolytic Enzymes in Plants* (Annals of Botany, 1903).

BENEDICENTI et DE TONI : *L'azione della formaldeide sul ricambio respiratorio nei vegetali* (Atti del Reale Instituto Veneto di Scienze, etc.).

KARSTEN (G.) et SCHENCK : *Vegetationsbilder.* Heft. 3-8. Iena, Fischer, 1903.

ROUY (G.) : *Flore de France*, tome VIII. Paris, Deyrolle, 1903.

THOUVENIN : *Précis de microchimie végétale.* Paris, Doin, 1904.

KLEBS (Georg) : *Willkürliche Entwickelungsänderungen bei Pflanzen.* Iena, Fischer, 1903.

MARTIN (Ch.-Ed.) : *Matériaux pour la flore cryptogamique suisse* Vol. II. Fasc. I. *Le Boletus subtomentosus de la région genevoise.* Berne. Wyss, 1903.

LINSBAUER (Karl et Ludwig) et PORTHEIM : *Wiesner und Seine Schule.* Vienne, Hölder, 1903.

RICHET (Charles) : *Dictionnaire de physiologie.* Tome VI. Fasc. II. Paris, Alcan, 1903.

ISTVANFFI (Dr Gy de) : *Etudes sur le Rot livide de la vigne (Coniothyrium diplodiella).* Budapest, 1702.

HÉRIBAUD (Frère) : *Les diatomées fossiles d'Auvergne.* 1er et 2e Mémoires. Clermont-Ferrand, 1902-1903.

— : *Disposition méthodique des diatomées d'Auvergne.* Clermont-Ferrand, 1903.

HOUARD (C.) : *Recherches anatomiques sur les galles des tiges : Pleurocécidies.* Paris, 1903.

DUBARD (Marcel : *Recherches sur les plantes à bourgeons radicaux.* Paris, 1903.

EBERHARDT : *Influence de l'air sec et de l'air humide sur la forme et sur la structure des végétaux.* Paris, 1903.

JODIN : *Recherches anatomiques sur les Borraginées.* Paris, 1903.

CHARPENTIER : *Recherches sur la physiologie d'une algue verte.* Sceaux, 1903.

VACANCE DE L'EMPLOI DE CONSERVATEUR
DE L'HERBIER LLOYD, A ANGERS

La place de conservateur de l'herbier Lloyd, à Angers, se trouvant vacante par suite du décès de son titulaire, M. Gaillard, les candidats à cette fonction, qui comporte un traitement, sont priés de poser leur candidature et de faire connaître leurs titres en écrivant au siège de la Société botanique de France, 84, rue de Grenelle, Paris, VIIe, avant le 1er janvier 1904.

Lille. — Imp. LE BIGOT frères.

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google